Manual Veterinario de Toma y Envío de Muestras





Manual Veterinario de Toma y Envío de Muestras





1ª Edición: Año 2010

Impreso en Brasil / Printed in Brazil

Distribución e información
MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y ABASTECIMIENTO
Departamento de Salud Animal
Coordinación General de Lucha contra Enfermedades
Esplanada dos Ministérios, Bloco D, Anexo - A,
3º andar, Sala 301
Brasília/DF – CEP: 70.043-900 – 0800 704 1995
http://www.agricultura.gov.br/

Este Manual es una traducción de la primera edición hecha en 2010, en portugués, y fue realizado en el ámbito del Termino de Cooperación Técnica (TCT) con el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento (MAPA) y el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa (PANAFTOSA) de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) / Organización Mundial de la Salud (OMS).

Manual veterinario de toma y envío de muestras:
manual técnico. Cooperación Técnica MAPA/OPS/PANAFTOSA para el Fortalecimiento de los Programas de Salud Animal de Brasil. Rio de Janeiro: PANAFTOSA - OPS/OMS, 2017.

218p.: il. Color.; 15 cm. (Serie de Manuales Técnicos, 13)

ISSN 0101-6970

1. Toma de muestras - manuales. 2. Enfermedades de los animales - diagnóstico. I. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa - OPS/OMS. II. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento. III. Título. IV. Series.

Créditos

Coordinación
Guilherme Henrique Figueiredo Marques - DSA/SDA/MAPA
Júlio César Augusto Pompei – OPS/PANAFTOSA
Mônica Martini - OPS/PANAFTOSA

Revisión Técnica
Júlio César Augusto Pompei – OPS/PANAFTOSA
Mônica Martini - OPS/PANAFTOSA
Gilfredo Darsie - OPS/PANAFTOSA
Guilherme Henrique Figueiredo Marques – DSA/SDA/MAPA
Ana Cristina Gonçalves Pinto da Rocha – CGAL/SDA/MAPA

Elaboración: Grupo Técnico
Edviges Maristela Pituco – IB/SP
Josete Garcia Bersano – IB/SP
Claudia Del Fava – IB/SP
Claudia Pestana Ribeiro – IB/SP
Simone Miyashiro – IB/SP
Ricardo Spacagna Jordão – IB/SP
Adriana Hellmeister de Campos Nogueira – IB/SP
Antonio Guilherme Machado de Castro – CAPTAA/SP
Renato Luís Luciano – CAPTAA/SP
Ana Maria Iba Kanashiro – CAPTAA/SP
Ana Lúcia S. P. Cardoso – CAPTAA/SP
Eliana Neire Castiglioni Tessari – CAPTAA/SP
Érica Weinstein Teixeira – APTA/SP
Dejair Message – UFV/MG

Revisión Bibliográfica
Astrid Rocha Pimentel

Colaboración
IB/SP: Alessandra Figueiredo de Castro Nassar, Elenice Sequetin Cunha, Eliana De Stefano, Eliana Roxo, Eliana Scarcelli Pinheiro, Liria Hiromi Okude, Margareth Élide Genovez y Wilter Ricardo Russiano Vicente.
MAPA: José Carlos de Souza
CDA/SP: Armando Salvador da Silva (In memoriam)
Departamentos de Clínica Veterinaria y Reproducción Animal de la FMVZ/ USP

Presentación

La Cooperación Técnica entre el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento hizo posible acciones efectivas para el fortalecimiento de los Programas de Salud Animal de Brasil, principalmente mediante inversiones para mejorar las acciones técnicas y valorizar a los profesionales involucrados en mantener el patrimonio representado por la Sanidad Animal.

Este "Manual Veterinario de Toma y Envío de Muestras" fue elaborado para llenar el vacío en la bibliografía especializada y tiene como propósito servir como guía de consulta rápida y objetiva para veterinarios de campo del sector oficial o privado.

De esta manera, el manual tiene como objetivo mejorar la calidad de las muestras colectadas y asegurar su correcta conservación y envío, facilitando a la red de laboratorios la realización de diagnósticos rápidos y concluyentes dentro del ámbito de los Programas Nacionales de Sanidad Animal.

Es nuestro deseo que además de ser utilizado en el campo por los profesionales de medicina veterinaria, este manual sea también un valioso instrumento de capacitación, uso y referencia para los Servicios de Sanidad Animal.

Jamil Gomes de Souza
Departamento de Salud
Animal – Director

Ottorino Cosivi
Centro Panamericano de
Fiebre Aftosa – Director

Prefacio

El Manual Veterinario de Toma y Envío de Muestras fue elaborado de forma simple, práctica y con una visión actualizada de los aspectos más importantes de la toma de muestras para el diagnóstico de las principales enfermedades de los animales. Los autores hicieron especial hincapié en aquellos puntos que, según su experiencia, consideran de mayor interés, particularmente para los Programas de Salud Animal de Brasil.

En sus capítulos, divididos de acuerdo con los aspectos de bioseguridad y con la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades en rumiantes, equinos, porcinos, aves y abejas *Apis mellifera*, el manual ofrece apoyo a los médicos veterinarios de campo con respecto de la correcta toma de material de la especie afectada y el sistema comprometido, para que las muestras seleccionadas no consideren solo la enfermedad sospechada durante el examen clínico, lo que imposibilitaría los diagnósticos diferenciales.

El Manual no pretende agotar todos los temas que aborda sino que abre la posibilidad a una discusión focalizada y actualizada y brinda una oportunidad para futuras contribuciones, revisiones e informaciones complementarias. Se espera que los usuarios del Manual lo apliquen en sus actividades diarias, aclarando dudas y promoviendo cambios que den como resultado una mejor atención veterinaria.

Agradecimientos

Expresamos nuestro sincero agradecimiento al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento (MAPA) por el apoyo recibido para la elaboración de este Manual, y al equipo de autores por el excelente trabajo realizado.

Índice

Capítulo 1

Capítulo 2

Capítulo 3

Capítulo 4



BIOSEGURIDAD

Autores
Edviges Maristela Pituco
Ricardo Spacagna Jordão
Adriana Hellmeister de Campos Nogueira

Centro de I & D en Sanidad Animal
Instituto Biológico (APTA/SAA-SP)

La bioseguridad consiste en un conjunto de procedimientos destinados a prevenir, controlar, reducir o eliminar los riesgos inherentes a las actividades susceptibles de comprometer la salud humana, animal y el ambiente

1 - Equipos de protección personal (EPP)

Utilizar vestimenta de protección apropiada de acuerdo con el riesgo, tales como overol, delantal o pantalón y chaqueta impermeables.



Gafas

Guantes con malla de acero

Cofia

Máscara

Guantes de látex

Guantes de nitrilo– Neoprex

Guantes tejidos moteados

Botas

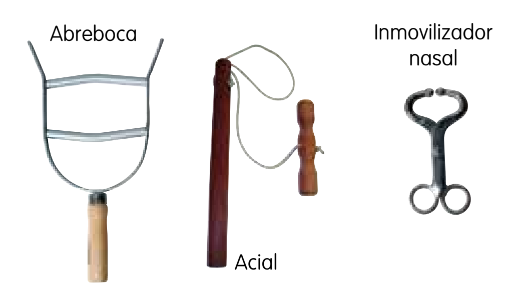
Delantal impermeable

Delantal

Overol

2 - Equipos para la contención de los animales

Verifique con anticipación si las instalaciones y los equipos están disponibles, limpios y en buenas condiciones de uso. Utilice equipos y materiales de buena calidad.



Con el fin de prevenir accidentes y hacer una recolección adecuada de muestras para diagnóstico es muy importante que el animal esté bien inmovilizado. Preferentemente, esto debe hacerse en el brete de contención.



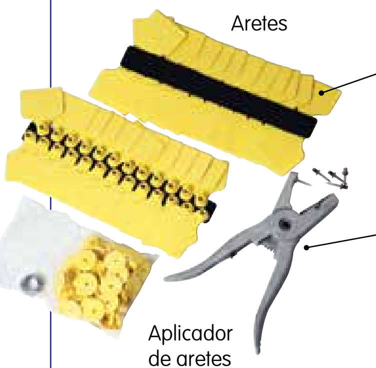
- ✔ Se puede lograr una buena contención usando una argolla nasal



Muchas veces es necesario utilizar trabas, principalmente cuando hay riesgo de accidentes (coces) o cuando los animales están inquietos.

3 - Identificación del animal y de la muestra

Los métodos más comunes de identificación de los animales son: tatuaje, arete (visual o electrónico) y marcación a fuego.



Aretes

Aretes: aplique el arete en la parte central de la oreja y entre las dos nervaduras principales.

El alicate de aplicación debe estar en posición vertical (parado), evite la posición horizontal ("acostada").

Aplicador de aretes



Animal con arete bien colocado

La identificación de la muestra comienza con la identificación del animal. Esa etapa es crucial para garantizar la rastreabilidad al final del proceso. En el momento de la toma de la muestra de cada animal se deberá verificar el número del animal y anotarlo en el rótulo del frasco y en el formulario de recolección. Si no es posible obtener la identificación del animal, identificar el lote o grupo, la colmena, etc.

NOTA

Registrar la identificación del animal en el recipiente de recolección, preferentemente con bolígrafo, sobre una etiqueta adhesiva. Para sustituir esa forma de identificación, es necesario evaluar previamente la opción alternativa que se empleará.



4 - Descarte de material

Material cortopunzante

Las agujas, las hojas de bisturí, los tubos rotos, los tubos de vidrio con líquidos, etc., se deben descartar en cajas recolectoras aptas para material cortopunzante. Si no se dispone de estas cajas, utilizar recipientes de paredes rígidas con tapas (latas de leche en polvo o similares).



NOTA
Los recipientes que contienen residuos potencialmente infecciosos deben rotularse como "Infeccioso" y desecharse como residuos hospitalarios o equivalente, respetando las normas nacionales e internacionales orientadas a minimizar riesgos ambientales, sanitarios y ocupacionales.

Otros materiales

Jeringas, guantes, cofia, máscara, delantal u overol desechables; gasas, algodón y otros materiales potencialmente infecciosos deben descartarse en bolsas de color blanco, debidamente identificadas para sustancias infecciosas.

NOTA
Antes de salir de la propiedad, todos los materiales utilizados para la recolección, tales como sondas, inmovilizadores, agujas metálicas y botas, deberán desinfectarse con desinfectantes químicos o físicos, respetando el tiempo de contacto y las indicaciones para cada situación. Los otros materiales, como los overoles, deberán colocarse en bolsas plásticas para su posterior desinfección y lavado.

5 - Acondicionamiento para el envío de muestras para diagnóstico

El sistema de embalaje, incluso para transporte terrestre, debe ser triple: un recipiente primario, un embalaje secundario y un embalaje externo necesariamente rígido (embalaje terciario).

1° Paso
Acondicionar el recipiente que contiene la muestra (recipiente primario), identificado de forma clara y legible, en una bolsa plástica herméticamente cerrada.





2° Paso
Envolver este conjunto en material absorbente para prevenir posibles derrames.

Importante: Se debe realizar una desinfección externa en todas las etapas del proceso de acondicionamiento de la muestra, desde el recipiente primario con la muestra, la bolsa plástica y el envase secundario, hasta la caja isotérmica.

3° Paso
Acondicionar dentro de otro recipiente resistente (embalaje secundario). Como alternativa de embalaje secundario se puede utilizar, por ejemplo, una lata de leche en polvo o chocolatata, por ejemplo.



NOTA

Si se colocan varios recipientes primarios frágiles en un mismo embalaje secundario, se los debe envolver individualmente, o separarlos, para evitar el contacto entre ellos.

4° Paso

Acomodar el recipiente en la caja isotérmica (embalaje intermedio) que, a su vez, deberá colocarse en el embalaje terciario (externo). Utilizar hielo reciclable en una cantidad compatible con el tamaño de la muestra y el tiempo hasta la llegada al laboratorio (como alternativa, utilizar una botella plástica bien cerrada con agua congelada). Llenar el espacio vacío con rellenos blandos (copos de poliestireno expandido, diario, papel absorbente).



- Usar cajas isotérmicas resistentes y en buenas condiciones.

NOTA

El transporte de muestras con mínima probabilidad de contener sustancias infecciosas, como suero y sangre para estudios seroepidemiológicos o en las cuales los agentes patógenos se hayan neutralizado o inactivado de manera tal que ya no representen riesgo para la salud, no está sujeto a esta regulación, y solo debe garantizarse que el embalaje primario sea hermético y a prueba de agua. El embalaje secundario puede ser una bolsa plástica hermética y la indicación externa solo debe contener la expresión: "Muestra Animal Libre de Agentes Infecciosos".

5° Paso

En la parte externa de la tapa de la caja isotérmica, adherir la solicitud de examen, debidamente completada y colocada en un folio plástico transparente. Cerrar bien la caja isotérmica y colocarla dentro del envase terciario, que deberá rotularse de acuerdo con las normas nacionales e internacionales. En los lados opuestos, colocar la orientación del embalaje: "Este lado hacia arriba".





NOTA

Para el transporte, los embalajes de material biológico relacionado con especímenes para diagnóstico deben ser identificados con los siguientes elementos:

- Nombre, dirección y teléfono del remitente y del destinatario.
- Teléfono para emergencias.
- La etiqueta "UN 3373", colocada en la superficie externa del embalaje terciario, deberá ser fácil de ver y de leer. La designación oficial de transporte, "Substancia Biológica, categoría B", deberá figurar al lado de la etiqueta



INFORMACIÓN MÍNIMA NECESARIA PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO

Nombre de la Propiedad:
Nombre del Propietario:
Dirección: | Cuidad/Estado:
CP: | e-mail:
Apartado Postal: | Celular:
Teléfono:

Datos del Médico Veterinario

Nombre: | Celular: | E-mail:
Teléfono:
Dirección para envío del resultado: | Ciudad/Estado:
CP:

Datos de las Muestras

Sistemas afectados:
[ ] Sistema nervioso central
[ ] Infecciones de mucosa y piel
[ ] Infecciones gastrointestinales
[ ] Infecciones vasculares
[ ] Infecciones osteoarticulares
[ ] Infecciones del aparato respiratorio

Finalidad del examen:
[ ] Confirmación del diagnóstico y vigilancia
[ ] Movilización
[ ] Requisito de certificación/revalidación
[ ] Monitoreo
[ ] Otra:__________

Tipo de Muestras:
[ ] Suero
[ ] Sangre Total - Anticoagulante: [ ] EDTA [ ] Otro: __________
[ ] Biopsia – Especificar: sitio de la lesión/tejido__________
[ ] Contenido gástrico [ ] Heces [ ] Semen [ ] Secreción: __________
[ ] Órganos:__________
[ ] Embrión [ ] Feto [ ] Líquido de cavidad [ ] Placenta/cotiledón
[ ] Otras - Especificar:__________

Información Complementaria:

Información Clínica:
(describir objetivamente los hallazgos clínicos más significativos)

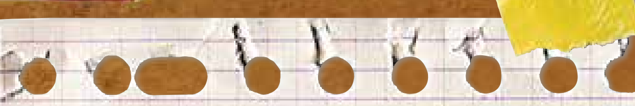
Datos epidemiológicos relevantes:
(área endémica de alguna enfermedad infecciosa, personas involucradas, etc.)

Diagnóstico presuntivo:

Formulario detallado de recolección

Identificación de la muestra	Identificación del animal	Especie	Edad	Sexo	Tipo de muestra	Principal sistema afectado

Fecha de recolección: | Fecha de envío:
Responsable de la recolección:



Puntos importantes al completar la Solicitud de Exámenes

1 - Localización de la propiedad

1.1 Nombre completo (sin abreviaturas) y dirección del propietario del animal sospechoso.

1.2 Nombre completo de la propiedad o establecimiento donde se recolectó la muestra.

1.3 Localización que facilite el acceso a la propiedad citada

2 – Identificación del remitente de la muestra

2.1 Nombre completo (sin abreviaturas) y dirección del responsable del envío de la muestra. Se deberá incluir un número de teléfono para casos de emergencia.

2.2 El responsable de completar el formulario y enviar la muestra deberá ser un profesional debidamente habilitado para trabajar con materiales de riesgo biológico.

3 – Descripción del animal sospechoso, del rebaño y de la muestra

3.1 Informar la fecha de recolección, el nombre o número del animal sospechoso, la edad, el sexo, la raza o especie.

3.2 Completar la finalidad del examen (ej. confirmación de diagnóstico, movilización, monitoreo). En caso de confirmación de diagnóstico, describir cuáles son los síntomas clínicos que presenta el animal, y la fecha probable de comienzo de la enfermedad y, en caso de autopsia, describir los hallazgos más significativos.

Para la confirmación del diagnóstico se debe completar una solicitud de exámenes para cada animal

3.3 Informar el número de animales existentes en la propiedad, cuántos animales presentaron signos clínicos semejantes y cuántos murieron (informar vacunación, desparasitación).

3.4 Informar qué muestras se enviaron y el conservante utilizado.

4 - Información complementaria

Este espacio se reserva para cualquier otra información que el técnico considere pertinente (ante la sospecha de zoonosis informar si hay personas involucradas, etc.)

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE EXÁMENES PARA SÍNDROME NEUROLÓGICO
(versión actualizada - diciembre/2009)
Nº ______/____ (Estado)

A
¹ Responsable de la recolección de la muestra: | ² Registro Profesional nº
³ Responsable del envío: | Registro Profesional nº
Teléfono: ( )
Fax: ( )
Dirección:
Municipio/Estado:
E-mail:

B
¹ Propietario: | ² Propiedad:
³ Coordenadas: | Municipio/Estado:
⁴ Localización: | Teléfono: ( )
E-mail: | Fax ( )

C
¹ Especie: Bovinos ☐ (para bovino **importado** citar país de origen: ______) Equinos ☐ Ovinos ☐ Caprinos ☐ Porcinos ☐ Caninos ☐ Felinos ☐ MH ☐ MNH ☐ Animales Silvestres (citar la especie: ______)
²Lugar de origen de la muestra (para rumiantes): Establecimiento de crianza ☐ Hospital veterinario ☐ Ferias/ aglomeración de animales ☐ Otro ☐ (especificar: ______)
³Identificación del animal: | Edad: ____ meses | Raza: ______ | Sexo: M ☐ F ☐
⁴Método para estipular edad (para rumiantes): Registro genealógico o de hacienda ☐ Cronología dentaria ☐ Otro ☐ (especificar: ______)
⁵ ¿En alguna etapa de su vida, el animal ingirió pienso? No ☐ Sí ☐ Cuándo: ______
¿Había otras especies afectadas? No ☐ Sí ☐ Cuáles? ______
⁶ Número de animales: en el rebaño ( ) enfermos ( ) muertos ( )
⁷ ¿El animal muerto había sido vacunado para: Rabia ☐ Clostridiosis ☐ Moquillo ☐ Leptospirosis ☐ Botulismo ☐ Otras ______ ¿ ¿Cuándo? ______

D
¹Origen de la notificación: Propietario ☐ Tercero ☐ Vigilancia ☐ Fecha de Notificación: ___/___/___
²Fecha de 1° visita: ___/___/___ | Fecha probable de comienzo de la enfermedad: ___/___/___
³Tipos de signos clínicos presentados (indicar):
Muerte súbita ☐ | Movimiento de pedaleo ☐ | Parálisis flácida de los miembros posteriores ☐
Depresión ☐ | Convulsiones ☐ | Parálisis flácida de los miembros anteriores ☐
Ataxia ☐ | Dismetría ☐ | Alteración del comportamiento ☐
Parálisis, pero alerta ☐ | Temblores ☐ | Fotofobia/aerofobia ☐ | Sialorrea ☐
Priapismo ☐ | Nistagmo ☐ | Midriasis ☐ | Agresividad ☐
Ceguera ☐ | Tenesmo ☐ | Opistótonos ☐ | Tetania ☐
Incoordinación ☐ | Apetito anormal ☐ | Espasmos musculares ☐
Duración de los signos clínicos (desde el inicio hasta la muerte/sacrificio): ____ horas | Sacrificado: Sí ☐ No ☐
¿Hubo animales que se recuperaron de los signos clínicos? Sí ☐ No ☐ ¿Qué porcentaje? ___ %
¿Hubo contacto directo de personas con animales sospechosos? Sí ☐ No ☐

E
¹Tipo de muestra ENVIADA: Encéfalo ☐ Médula ☐ Vísceras/Otras ☐ ¿Cuáles? ______
Día y hora probable de muerte: ___/___/___ a las ___:___ | Día y hora de recolección de la(s) muestra(s): ___/___/___ a las ___:___
Tiempo entre la recolección y la fijación del material: ____ hora(s) | Material enviado el: ______

F
Observaciones

Lugar/Fecha: ______, ___/___/___

Firma y sello

Algunos puntos importantes al completar la Solicitud de Exámenes para Síndrome Neurológico

A - Identificación del remitente de la muestra:
Nombre completo del responsable de la recolección y/o envío de la muestra con N° de registro profesional, si es un veterinario oficial, o número de matrícula y nombre de la institución.

B – Localización de la propiedad donde se recolectó la muestra:
Nombre completo del propietario del animal y de la propiedad o establecimiento donde se recolectó la muestra. Si es posible, registrar las coordenadas de la propiedad y localización que facilite el acceso.

C – Descripción del animal sospechoso y del rebaño en que se encontraba:
Marcar la especie animal y en caso de animal silvestre, especificar el nombre vulgar. Marcar MH (murciélago hematófago) y MNH (murciélago no hematófago). **Rumiante:** colocar el lugar de origen de la muestra en el ítem 2 y completar el ítem 5, referente a la ingesta de proteínas, concentrados, pienso y suplemento mineral proteico. Informar el rebaño existente, N° de animales con síntomas clínicos y muertos; no considerar esta información para animales domésticos o silvestres.

D – Acciones en la propiedad sospechosa y signos clínicos presentados.
Colocar el origen de la notificación, fecha de la 1ª visita y fecha probable de comienzo de la enfermedad.

E - Información sobre la recolección, acondicionamiento y conservación de la muestra
Se puede marcar más de un casillero siempre que las muestras pertenezcan al mismo animal. Especificar las muestras enviadas siempre que se marque “vísceras/otros”.

F – Observaciones.
Completar cualquier otra información pertinente, incluyendo información sobre agresión a personas, en caso de que haya ocurrido.

INFORMACIÓN MÍNIMA NECESARIA PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS PARA DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES DE ABEJAS *Apis mellifera*

Nombre de la Propiedad:
Dirección de la Propiedad:
Nombre del Propietario (apicultor):

Dirección:	Ciudad/Estado:
CP:	e-mail:
Apartado Postal:	Celular:
Teléfono:	

Datos del Médico Veterinario

Nombre:	Celular:	E-mail:
Teléfono:		
Dirección para envío del resultado:	Ciudad/Estado:	
CEP:		

Datos de las Muestras

Muestras recolectadas y su aspecto en el momento de la recolección:
[ ] Abejas del alvéolo. Aspecto:
[ ] Abejas del área de cría. Aspecto:
[ ] Abejas del piso. Aspecto:
[ ] Crías. Aspecto:
[ ] Panal de miel. Localización en la colmena.
[ ] Otros datos. Especificar:

Información de la colmena

Identificación de la colmena:
(identifique la colmena de forma permanente y escriba esa identificación aquí)
Condición de la colmena:
[ ] Fuerte. Obs:
[ ] Media. Obs:
[ ] Débil. Obs:
[ ] Otras condiciones.

Información complementaria

¿Utiliza alimentación suplementaria (energética o proteica)? Especificar y declarar el origen.
¿Practica apicultura migratoria? ¿Para qué lugar? ¿En qué época del año?
Número total de colmenas en la propiedad visitada
Información Clínica:
(síntomas observados, comportamiento, número de colmenas afectadas, etc.):

Formulario detallado de recolección

Identificación de la muestra	Identificación de la colmena	Tipo de muestra

Fecha de recolección:	Fecha del envío:
Responsable de la recolección	



Puntos importantes al completar la Solicitud de Exámenes

1 - Localización de la propiedad
1.1 Nombre de la propiedad o establecimiento donde se recolectó la muestra.
1.2 Dirección de la propiedad o establecimiento donde se recolectó la muestra (incluir localización que facilite el acceso a la propiedad citada).
1.3 Nombre completo (sin abreviaturas) y dirección y teléfono del propietario del colmenar.

2 – Identificación del remitente de la muestra
2.1 Nombre completo (sin abreviaturas), dirección y teléfono del responsable del envío de la muestra.

3 - Datos de las Muestras
3.1 Completar un formulario por colmena.
3.2 Informar todos los tipos de muestras recogidas en cada colmena, con las observaciones pertinentes.
No olvidar indicar el lugar del interior de la colmena del cual se recogió el fragmento de panal de miel.

4 - Información de la colmena
4.1 Si el apicultor no utiliza marcación permanente de las colmenas, hacer una marcación en cada una de las colmenas de las que se recogieron las muestras.

5 - Información complementaria
5.1 Detallar el manejo de la alimentación suplementaria adoptado por el apicultor (incluyendo época en que se suministró a las abejas).
5.2 Si el apicultor practica apicultura migratoria, indicar los lugares a donde se desplaza a las colmenas en cada época del año.
5.3 Informar si otros apicultores tienen colmenas en la misma propiedad.
5.4 Utilizar el reverso del formulario para otras observaciones que se consideren importantes y no estén contempladas en los ítems mencionados (ej.: historial del problema etc.)

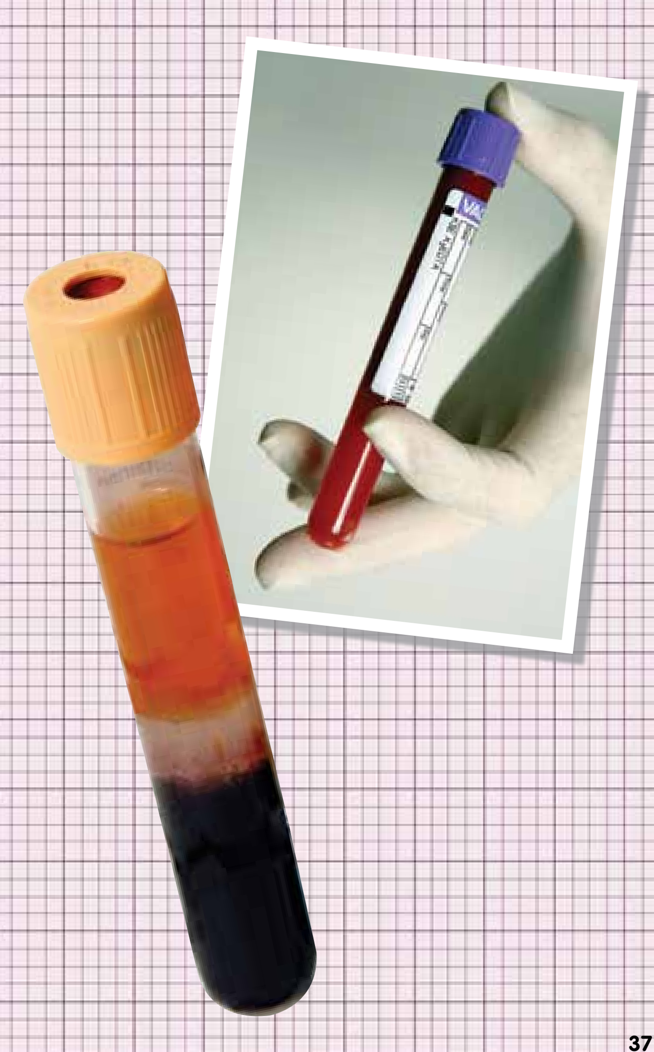
RUMIANTES, EQUINOS Y PORCINOS

Autores
Edviges Maristela Pituco
Claudia Del Fava
Claudia Pestana Ribeiro
Josete Garcia Bersano
Simone Miyashiro

Centro de I & D en Sanidad Animal
Instituto Biológico (APTA/SAA-SP)

Sangre

La sangre representa cerca del 8% del peso corporal de un animal. Los análisis de sangre son un importante apoyo para el diagnóstico clínico. Puede extraerse con jeringa y aguja y transferirse a recipientes de diferentes capacidades, con o sin anticoagulante, o recolectarse en tubos de vacío que, al ser herméticos, garantizan la esterilidad de la muestra, lo que es deseable en toda punción venosa. Para que sean representativas, se debe mantener la composición y la integridad de las muestras de sangre durante las fases preanalíticas de recolección, manipulación, transporte y eventual almacenamiento. Antes de la recolección de sangre para análisis de laboratorio, es importante conocer, controlar y, si es posible, evitar algunas variables que pueden interferir en la exactitud de los resultados. En general, estas variables están relacionadas con condiciones preanalíticas como modificaciones en la dieta y uso de medicamentos. Otros aspectos, como el uso de gel separador, anticoagulantes y conservantes y la hemólisis también pueden provocar una variación de los resultados.



1. Material

Sangre

2. Dónde recolectar

a) Vena yugular;
b) Vena coccígea;
c) Vena mamaria; y
d) en porcinos, vena cava craneal



3. Cómo recolectar

Utilizar sistema de vacío o jeringa y aguja



4. Recipiente y cantidad

a) Tubo de ensayo sin anticoagulante: capacidad 10 mL.



b) Tubo de ensayo con EDTA K2: capacidad 5 mL.

a) Obtención de suero

Extraer la sangre en un tubo sin anticoagulante; mantener el tubo inclinado a temperatura ambiente hasta que se coagule la sangre, se retraiga el coágulo, y exude el suero (30 a 60 min). Transferir el suero a otro tubo (tapón de rosca o tipo "Eppendorf"). Si se utiliza tubo con gel separador, será necesario centrifugar la sangre como mínimo 30 minutos y como máximo 2 horas después de la extracción, y enviar el suero en el mismo tubo.

b) Sangre total

La sangre se debe extraer y enviar en un tubo con anticoagulante (EDTAk2). Homogeneizar suavemente, invirtiendo el tubo (alrededor de 6 veces)



5. Exámenes

a) Identificación de anticuerpos

b) Identificación directa del agente

6. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

Extracción de sangre con Sistema de Vacío

PASO A PASO

1. Enroscar la aguja en el adaptador. Retirar el capuchón protector de la aguja recién en el momento de la punción; (figuras a y b)

2. Desinfectar el lugar elegido para la punción; pasar un algodón embebido en alcohol al 70%, en la dirección del pelo;

3. Retirar el capuchón de la aguja y realizar el torniquete;

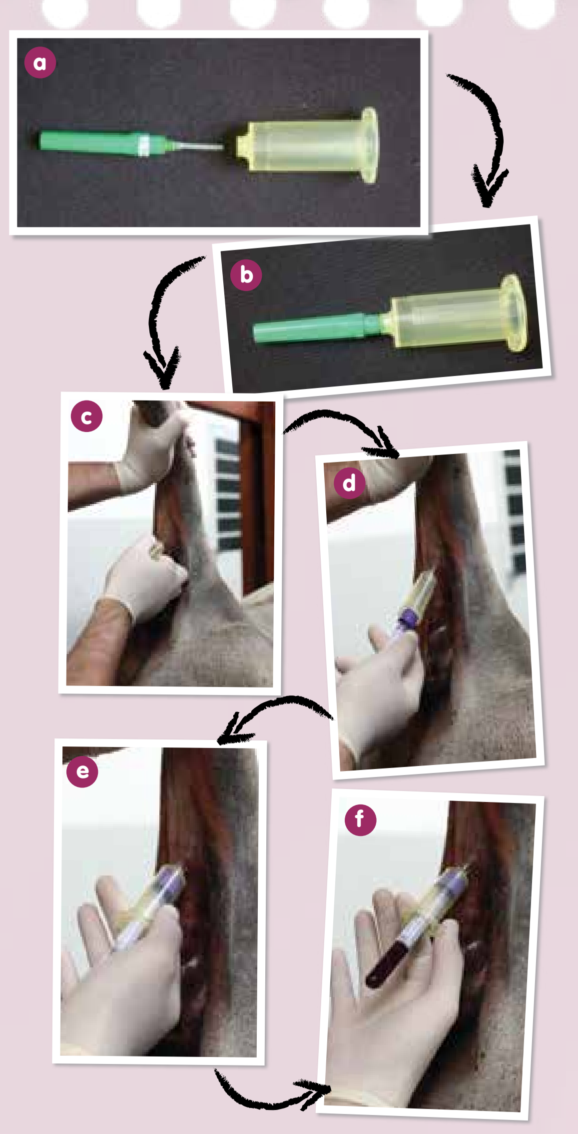
4. Punzar la vena; (figura c)

5. Introducir el tubo en el adaptador, presionándolo hasta el límite; (figuras d y e)

6. Esperar que la sangre deje de fluir dentro del tubo, y recién ahí retirar el tubo, asegurando la proporción adecuada de sangre/anticoagulante; (figura f)

7. Soltar el torniquete y recién después retirar el tubo y luego la aguja;

8. Separar la aguja del adaptador y desecharla en recipiente para material cortopunzante.



Extracción de sangre con Jeringa y Aguja

PASO A PASO

1. Colocar la aguja en la jeringa, sin retirar el capuchón protector. Asegurarse de que la aguja esté bien ajustada; (figura a)

2. Mover el émbolo de la jeringa (hacia adelante y hacia atrás) para retirar el aire; (figura b)

3. Desinfectar el lugar elegido para la punción; pasar un algodón embebido en alcohol al 70%, en la dirección del pelo;

4. Retirar el capuchón de la aguja y realizar el torniquete;

5. Introducir la aguja en la vena y tirar del émbolo de la jeringa lentamente, para que la sangre pueda fluir; (figura c)

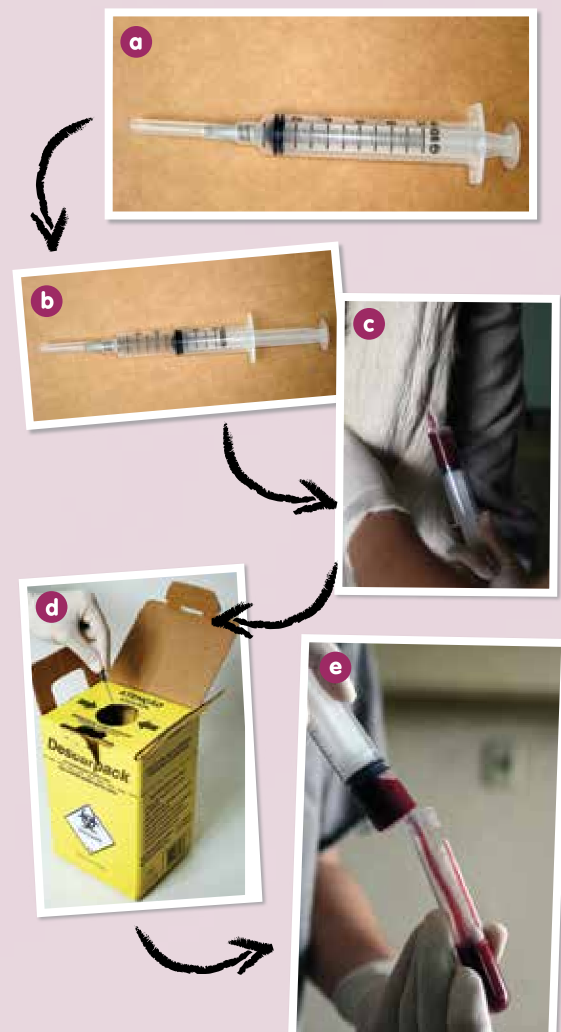
6. Extraer aproximadamente 10 mL de sangre;

7. Soltar el torniquete luego de la venopunción;

8. Separar la aguja de la jeringa. Desechar la aguja en recipiente para material cortopunzante (figura d).
Recuerde: Nunca volver a colocar el capuchón en las agujas.

9. Transferir la sangre de la jeringa a un tubo de ensayo con o sin anticoagulante. Para evitar hemólisis, la sangre debe fluir lentamente por la pared del tubo; (figura e)

10. Desechar la jeringa,, en una bolsa de plástico adecuada, en el mismo recipiente en que se desechó la aguja.



BUENAS PRÁCTICAS DE EXTRACCIÓN PARA PREVENIR HEMÓLISIS

- Antes de iniciar la punción, dejar que se seque el alcohol que se utilizó para desinfectar.
- Evitar usar agujas de menor calibre.
- No extraer sangre de un área con hematoma o equimosis.
- En extracciones de sangre al vacío, punzar la vena del animal con el bisel hacia arriba. Punzar la vena con la aguja en un ángulo de inserción oblicuo de por lo menos 30 grados. Ese procedimiento sirve para prevenir el choque directo de la sangre en la pared del tubo, lo que puede hemolizar la muestra, y también para evitar el reflujo de la sangre del tubo a la vena del animal. Esperar que la sangre deje de fluir hacia el interior del tubo, antes de cambiar el tubo por otro, asegurando la proporción adecuada de sangre/ anticoagulante.
- Los tubos con cantidad insuficiente de anticoagulante o con exceso de sangre alteran la correcta proporción de sangre/aditivo, pudiendo producir hemólisis y resultados incorrectos.
- Cuando se extrae con jeringa, verificar si la aguja está bien ajustada para evitar que se forme espuma; no tirar del émbolo de la jeringa con mucha fuerza. Desechar la aguja, pasar la sangre, haciéndola deslizar cuidadosamente por la pared del tubo y procurando que el extremo de la jeringa no se contamine con el anticoagulante o el activador del coágulo que contiene el tubo.
- No clavar la aguja en la tapa del tubo para transferir la sangre de la jeringa al tubo porque puede producirse una presión positiva que provoca, además de hemólisis, el desplazamiento del tapón del tubo.

BUENAS PRÁCTICAS DESPUÉS DE LA EXTRACCIÓN PARA PREVENIR HEMÓLISIS

- La sangre extraída no debe exponerse a temperaturas muy elevadas ni a la luz directa para evitar hemólisis y/o degradación.
- Homogeneizar la muestra de sangre con anticoagulante suavemente invirtiéndola de 5 a 10 veces; no agitar el tubo.
- Nunca debe congelarse la sangre entera; en caso de que sea necesario almacenar, mantener la sangre refrigerada, recordando que deberá llegar al laboratorio dentro de las 48 horas.
- El suero puede congelarse a - 20°C, hasta por un mes. Nunca congelar el suero con coágulo en el tubo sin gel separador.
- No dejar la sangre en contacto directo con hielo.
- No centrifugar la muestra de sangre en el tubo para obtención de suero antes de la retracción completa del coágulo, ya que la formación del coágulo todavía no está completa, lo que puede provocar ruptura celular.
- Cuando se utilice un tubo primario con gel separador, la separación (centrifugación) del suero debe realizarse dentro de un mínimo de 30 minutos y un máximo de 2 horas después de la extracción.
- No se pueden centrifugar los tubos con gel separador a baja temperatura, ya que las propiedades de flujo del gel están relacionadas con la temperatura. Si el tubo se enfría antes o durante la centrifugación se puede comprometer la formación de la barrera de gel. Para optimizar el flujo y evitar el calentamiento, ajustar las centrífugas refrigeradas a 25° C.
- No usar el freno de la centrífuga para interrumpir súbitamente la centrifugación de los tubos pues la interrupción brusca puede provocar hemólisis.

TABLA DE MEDIDAS DE LAS AGUJAS

Métrico (mm)	Gauge (Calibre) / Polegadas	Color del Conector El color del conector define el diámetro de la aguja
1,60 X 40	16G 1 1/2	BLANCO
1,20 X 25 1,20 X 40	18G 1 18G 1 1/2	ROSA
1,00 X 25 1,00 X 30	19G 1 19G 1 1/4	BEIGE
0,80 X 25 0,80 X 30 0,80 X 40	21G 1 21G 1 1/4 21G 1 1/2	VERDE
0,70 X 25 0,70 X 30	22G 1 22G 1 1/4	NEGRO
0,55 X 20	24G 3/4	VIOLETA
0,45 X 13	26G 1/2	MARRÓN
0,38 X 13	27 5G 1/2	GRIS

Indicaciones de uso

Punción venosa: Blanca – bovinos y búfalos; **Rosa –** bovinos, equinos, porcinos y pequeños rumiantes; **Beige –** pequeños rumiantes; **Verde –** pequeños rumiantes
Punción articular: verde, violeta, marrón y gris; **Aves –** negro y verde

TUBOS PARA EXTRACCIÓN DE SANGRE

	TUBOS CON ANTICOAGULANTE			TUBOS SIN ANTICOAGULANTE	
	EDTA K2 DIPOTÁSICO	EDTA K2 DIPOTÁSICO CON GEL SEPARADOR	HEPARINA	TUBO SILICONADO	TUBO SILICONADO CON GEL SEPARADOR
TUBOS	Tapa lila	Tapa blanca	Tapa verde	Tapa roja	Tapa amarilla
PREPARACIÓN	Centrifugado	Centrifugado Máximo hasta 2 horas después de extracción	Centrifugación	Reposo 30 a 60 min.	Centrifugado (1500-2000g/10min), mínimo 30 minutos y máximo 2 horas después de extracción
PRODUCTO FINAL	Sangre total Plasma Anillo de leucocitos	Sangre total Plasma Anillo de leucocitos	Sangre total Plasma	Coágulo Suero	Coágulo Suero separado por Gel
EXÁMENES	Aislamiento Biología Molecular	Aislamiento Biología Molecular	Exámenes Bioquímicos y toxicológicos	Identificación de anticuerpos	Identificación de anticuerpos

Piel y mucosas

La etiología de las enfermedades que afectan la piel es muy variada e incluye, entre otras, causas parasitarias, bacterianas, fúngicas, virales, neoplásicas, nutricionales, tóxicas, físicas, congénitas y genéticas. El diagnóstico no es sencillo, ya que la piel está expuesta a factores externos (contaminación y efectos del sol) que modifican sustancialmente el aspecto y la evolución de las lesiones. De las enfermedades que atacan las mucosas, la principal es la estomatitis, que abarca el complejo de enfermedades vesiculares tales como la fiebre aftosa, la estomatitis vesicular y la viruela bovina, que tienen en común la propiedad de provocar la formación de vesículas que contienen un líquido incoloro o ligeramente sanguinolento, típico de esas enfermedades, en las especies afectadas. El diagnóstico se realiza en función de datos clínicos, epidemiológicas y de laboratorio. **El diagnóstico siempre debe tener un carácter diferencial**. Los materiales de elección para el diagnóstico son fragmentos de epitelio y de mucosas y exudado (líquido vesicular) provenientes de lesiones de la lengua, la boca, las pezuñas y las ubres. Además, para la identificación directa del agente en posibles portadores del virus de la fiebre aftosa se utiliza material esofágico-faríngeo. Se ha utilizado la identificación de anticuerpos en suero para demostrar ausencia de infección, determinar la prevalencia en estudios seroepidemiológicos, evaluar la respuesta humoral después de vacunación y desafío para los programas de erradicación y vigilancia. En raras ocasiones la serología puede utilizarse como herramienta de diagnóstico definitivo.

Principales enfermedades de piel y mucosas y especies afectadas

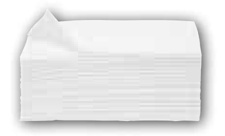
ENFERMEDADES	ESPECIES AFECTADAS				
	Bovino	Porcino	Ovino	Caprino	Equino
Fiebre aftosa	X	X	X	X	–
Estomatitis vesicular	X	X	X	X	X
Lengua azul	X	–	X	X	–
Viruela/Vacuna (orthopoxvirus)	X	X	X	X	X
Pseudoviruela	X	–	–	–	–
Ectima contagioso	–	–	X	X	–
Rinotraqueitis infecciosa bovina/ vulvovaginitis pustular infecciosa	X	–	–	–	–
Diarrea viral bovina	X	–	–	–	–
Enfermedad vesicular porcina	–	X	–	–	–
Exantema Vesicular porcino	–	X	–	–	–

Material para la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades de piel y mucosas




Portaláminas


Hisopos y medios conservantes para transporte


Papel absorbente


Hoja de bisturí


Pinza

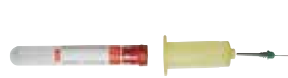
Mango de bisturí

Tesoura cirúrgica


Colector universal


Aguja para recolección de sangre en vacío


Lâmina para microscopia


Sistema para extracción de sangre en vacío


Jeringa y agujas

Muestras para el diagnóstico de enfermedades de Piel y Mucosas

1. Material

Líquido y tejido epitelial vesicular

2. Como recolectar

a) Líquido Vesicular.
Si las vesículas están íntegras (no desgarradas), extraer el líquido vesicular, con ayuda de jeringa y aguja estéril

b) Tejido Epitelial Vesicular.
Recolectar, con tijera o bisturí y pinza estéril, fragmentos de epitelio vesicular, incluyendo los contornos de las lesiones de las regiones oral, nasal, podal y de la glándula mamaria



Extracción del líquido vesicular de un bovino afectado por fiebre aftosa



Lesión extensa de la boca en un bovino afectado por fiebre aftosa

NOTA
Antes de la recolección se deben lavar las patas y las ubres con agua limpia, para eliminar suciedad (no utilizar ningún tipo de jabón o antiséptico)



Lesiones en el espacio interdigital de un bovino



Lesiones en la tetilla de una vaca, provocadas por el virus de la viruela bovina

3. Cantidad

a) Todo el contenido de la vesícula

b) Cerca de 2 g de epitelio (1 a 2 cm²)

4. Medio

a) Ninguno

b) Liquido de Vallée con pH 7,4 a 7,8; o Medio Eagle 2X concentrado, con antibiótico y pH 7,2-7,6

5. Recipiente



a

a) Tubo de ensayo estéril con tapa de rosca (5 mL)

b) Tubo de ensayo estéril con el medio apropiado en cantidad suficiente para que las muestras queden sumergidas

b

6. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

IMPORTANTE

Ante la sospecha de enfermedad vesicular se deberá notificar inmediatamente a los servicios oficiales.
Las muestras deben ser recolectadas solo por profesionales de servicios oficiales y enviadas en condiciones de seguridad a los laboratorios autorizados para prevenir la diseminación de la enfermedad.

8. Exámenes

Identificación directa del agente

1. Material

Líquido esofágico - faríngeo (LEF)



Introducción del colector en la boca del animal

2. Dónde recolectar

Mucosa de la región faríngea y anterior del esófago



Realización de los movimientos para la recolección del LEF

3. Como recolectar

- Antes de la recolección, los animales deberán permanecer en ayunas, si es posible, por un período de 12 horas;
- Una hora antes de la recolección, administrar agua para eliminar eventuales restos de alimentos;
- Recolectar las muestras de LEF por medio de colectores (Probang) previamente esterilizados, utilizando uno para cada animal. Se no se dispone de un número suficiente de colectores, realizar el lavado en agua limpia y desinfectar en agua hirviendo antes de recolectar la muestra de otro animal y así sucesivamente.
- Introducir el colector sobre la lengua del animal presionándolo levemente en la glotis hasta que el animal trague el vaso (asegurar que el colector no esté en la tráquea, situación que hará toser al animal y tratar de expeler el objeto);
- Realizar el raspado de la mucosa esofágico-faríngea, haciendo suaves movimientos con el colector (hasta 5 veces) y retirarlo con cuidado para no derramar el contenido;
- Transferir el material LEF a un frasco de boca ancha y agregar una cantidad igual de Medio Earle 2X;
- Cerrar el frasco, agitar y realizar la desinfección externa.



FOTO: LUÍS DÍAS

Transferir el contenido del vaso colector al frasco de boca ancha

NOTA
De acuerdo con las directrices de los programas de salud animal, la recolección de material esofágico-faríngeo solo podrá ser realizada por el Servicio Veterinario Oficial.

4. Cantidad

Volumen de moco (ideal: 15 mL, mínimo: 5 mL) diluido en igual volumen del medio

5. Medio

Earle 2X concentrado, con antibiótico y pH 7,4-7,6

6. Recipiente

Frasco de boca ancha, con tapa de rosca, esterilizado

7. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C); o Congelada (-20°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

NOTA
Las muestras para ensayos con fines legales deben estar lacradas o selladas para que solo se pueda acceder a ellas rompiendo el lacre o el sello.

9. Exámenes

Identificación directa del agente (Fiebre Aftosa)

1. Material

Exudado (secreciones)

NOTA
Solicitar al laboratorio el medio apropiado.

2. Dónde recolectar

Mucosa oral, nasal u otro tejido afectado por un proceso inflamatorio



Medios conservantes para transporte de la muestra (Tioglicolato de sodio, BHI y de Eagle)

3. Cómo recolectar

Recolectar con hisopo estéril, frotando enérgicamente el local



NOTA
Utilizar un hisopo para cada muestra.

4. Exámenes

a) Identificación de virus | **b)** Identificación de bacterias

5. Medio

a) Eagle 2X concentrado, con antibiótico y 10% Suero Fetal Bovino (pH 7,4-7,6)

b) Tioglicolato de sodiode sódio

6. Recipiente

Tubo de ensayo esterilizado



Colocación del hisopo en medio de Tioglicolato de sodio

7. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

1. Material

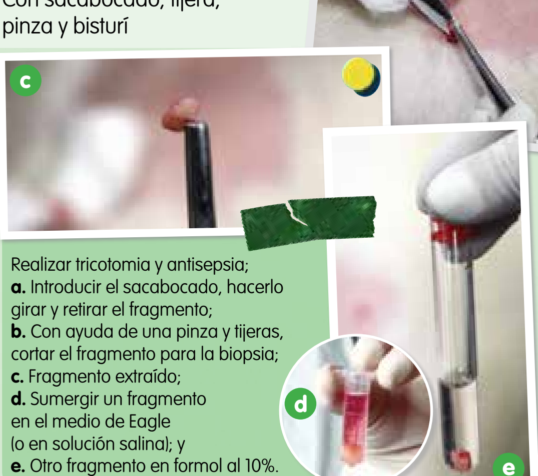
Biopsia de piel y mucosa

2. Dónde recolectar

Preferentemente en el área de transición con y sin lesión

3. Cómo recolectar

Con sacabocado, tijera, pinza y bisturí



Realizar tricotomia y antisepsia;
a. Introducir el sacabocado, hacerlo girar y retirar el fragmento;
b. Con ayuda de una pinza y tijeras, cortar el fragmento para la biopsia;
c. Fragmento extraído;
d. Sumergir un fragmento en el medio de Eagle (o en solución salina); y
e. Otro fragmento en formol al 10%.

4. Exámenes

a) Identificación directa del agente | **b)** Histopatológico

5. Cantidad

a y b) Fragmentos de 0,5 cm de diámetro por 0,3 cm de espesor como mínimo

6. Medio

a) 3 mL de Eagle o solución salina fisiológica - (NaCl 0,9%) estéril

b) Formol tamponado al 10% (Volumen de formol, por lo menos 10 veces mayor que el volumen de tejido que se fijará)

7. Recipiente

a) Tubo de ensayo esterilizado, capacidad de acuerdo con el tamaño del fragmento

b) Frasco, capacidad de acuerdo con el tamaño del fragmento

8. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C)

b) Ambiente o Refrigerada (+2°C a +8°C). **Nunca congelar**

9. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 48 horas

b) Enviar en el mismo tiempo que las muestras refrigeradas. **Los fragmentos en solución de formol al 10%, aunque no estén totalmente fijados, pueden enviarse al laboratorio.**

1. Material

Raspado de la piel



2. Dónde recolectar

En la periferia de las áreas lesionadas



3. Cómo recolectar

Hacer el raspado profundo con hoja de bisturí



4. Cantidad

Cerca de 1 g



5. Medio

Ninguno

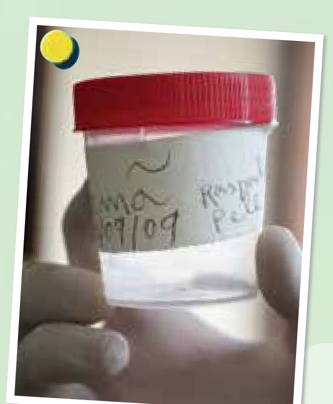
6. Recipiente

Colector universal



7. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)



8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

9. Exámenes

Identificación directa del agente

1. Material

Sangre

2. Dónde recolectar

a) Vena yugular;;
b) Vena coccígea;
c) Vena mamaria; y
d) en porcinos, vena cava craneal



3. Cómo recolectar

Utilizar sistema de vacío o jeringa y aguja



4. Recipiente y cantidad

a) Tubo de ensayo sin anticoagulante: capacidad 10 mL.



b) Tubo de ensayo con EDTA K2: capacidad 5 mL.

a) Obtención de suero

Extraer la sangre en un tubo sin anticoagulante; mantener el tubo inclinado a temperatura ambiente hasta que se coagule la sangre, se retraiga el coágulo, y exude el suero (30 a 60 min). Transferir el suero a otro tubo (tapón de rosca o tipo "Eppendorf"). Si se utiliza tubo con gel separador, será necesario centrifugar la sangre como mínimo 30 minutos y como máximo 2 horas después de la extracción, y enviar el suero en el mismo tubo.

b) Sangre total

La sangre se debe extraer y enviar en un tubo con anticoagulante (EDTAk2). Homogeneizar suavemente, invirtiendo el tubo (alrededor de 6 veces)



5. Exámenes

a) Identificación de anticuerpos

b) Identificación directa del agente

6. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

Sistema respiratorio

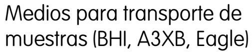
Las enfermedades respiratorias son multifactoriales y causan mortalidad, especialmente en animales jóvenes. Los cambios climáticos, el manejo zootécnico y las instalaciones inadecuadas estresan y debilitan a los animales, predisponiéndolos a infecciones. El diagnóstico debe basarse en el conjunto de datos, tanto clínicos como epidemiológicos y en la confirmación de laboratorio. El material clínico de elección para el diagnóstico diferencial debe incluir tejido pulmonar y ganglios linfáticos regionales, y secreciones respiratorias y oculares. El suero sanguíneo puede ayudar al diagnóstico.

Principales enfermedades del sistema respiratorio y especies afectadas

ENFERMEDADES	ESPECIES AFECTADAS				
	Bovino	Porcino	Ovino	Caprino	Equino
Tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) y otras micobacteriosis	X	X	X	X	X
Linfadenitis caseosa	–	–	X	X	–
Pleuroneumonía contagiosa (Micoplasmosis, Actinobacilosis)	X	X	X	X	X
Neumonía causada por agentes piogénicos	X	X	X	X	X
Enfermedad de Aujeszky	–	X	–	–	–
Rinitis atrófica (*Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida*)	–	X	–	–	–
Influenza	X	X	X	X	X
Virus Sincitial Respiratorio	X	–	–	–	–
Muermo	–	–	–	–	X
Rinoneumonitis equina	–	–	–	–	X
Arteritis viral equina	–	–	–	–	X
Maedi-Visna	–	–	X	–	–

Material para la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema respiratorio





Medios para transporte de muestras (BHI, A3XB, Eagle)



Tubos de vacío para extracción de sangre, con gel separador, sin y con anticoagulante



Microtubos tipo "Eppendorf"

Tubos con tapa de rosca

Hisopo estéril (Comercial)

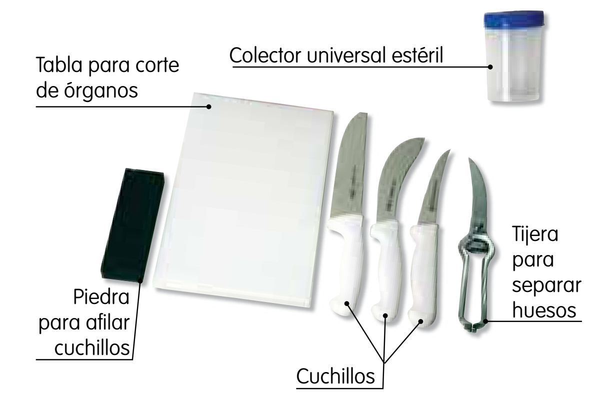
Aguja para extracción de sangre en vacío

Tubo tipo KMA (tapa de rosca)

Sistema para extracción de sangre en vacío



Cary Blair



Tijeras quirúrgicas



Muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema respiratorio

1. Material

Pulmón y linfonodos



Lesiones caseosas del pulmón de un animal con tuberculosis

2. Dónde recolectar

Órgano afectado y linfonodos regionales

3. Cómo recolectar

Con tijera y pinza estéril, recoger fragmentos de las áreas con lesiones (caseosas, purulentas, marmolada, otras)

NOTA
Un fragmento de la lesión es el material de elección para el diagnóstico de tuberculosis.

4. Exámenes

a) Identificación directa del agente | **b)** Histopatológico

5. Cantidad

a) Fragmentos de 20 g y, por lo menos, un linfonodo regional | **b)** Fragmentos de 3x1x1 cm de cada órgano

6. Medio

a) Ninguno | **b)** Formol tamponado al 10% (volumen de formol, por lo menos 10 veces el volumen del tejido que se fijará)

7. Recipiente

a) Colector universal estéril | **b)** Frasco, capacidad de acuerdo con el tamaño del fragmento

8. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C) | **b)** Ambiente o Refrigerada (+2°C a +8°C)

9. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 48 horas | **b)** Enviar en el mismo tiempo que la muestra refrigerada. **Los fragmentos en solución de formol al 10%, aunque no estén totalmente fijados, pueden enviarse al laboratorio**

1. Material

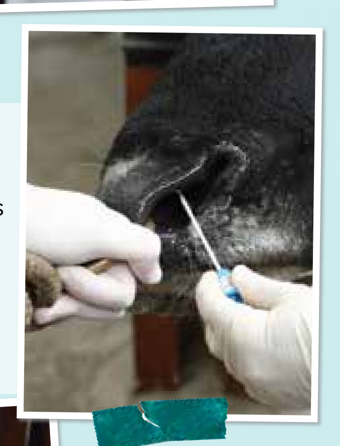
Secreciones

2. Dónde recolectar

Fosas nasales

3. Cómo recolectar

Limpiar la zona con gasa estéril humedecida en solución fisiológica, retirando costras, si las hubiera. Recolectar con hisopo estéril, frotando enérgicamente la zona, utilizando un hisopo para cada fosa nasal.
Sumergir el hisopo en el medio para transporte indicado.





4. Exámenes

a) Identificación de virus | b) Identificación de bacterias

5. Medio

a) Sumergir el hisopo en 2 mL de Eagle 2X, con antibiótico

b) Sumergir el hisopo en 2 mL de: A3XB para Mycoplasma spp, y Tioglicolato de sodio, BHI o Cary Blair para otras bacterias

a Meio Eagle

b Meio BHI

6. Recipiente

Tubo de ensayo estéril con el medio apropiado

7. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

NOTA

El suero sanguíneo puede ayudar al diagnóstico de algunas enfermedades respiratorias; por ese motivo, enviar el suero junto con el material para identificación directa del agente.

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

1. Material

Sangre

2. Dónde recolectar

a) Vena yugular;
b) Vena coccígea;
c) Vena mamaria; y
d) en porcinos, vena cava craneal



3. Cómo recolectar

Utilizar sistema de vacío o jeringa y aguja



4. Recipiente y cantidad

a) Tubo de ensayo sin anticoagulante: capacidad 10 mL.



b) Tubo de ensayo con EDTA K2: capacidad 5 mL.

a) Obtención de suero

Extraer la sangre en un tubo sin anticoagulante; mantener el tubo inclinado a temperatura ambiente hasta que se coagule la sangre, se retraiga el coágulo, y exude el suero (30 a 60 min). Transferir el suero a otro tubo (tapón de rosca o tipo "Eppendorf"). Si se utiliza tubo con gel separador, será necesario centrifugar la sangre como mínimo 30 minutos y como máximo 2 horas después de la extracción, y enviar el suero en el mismo tubo.

b) Sangre total

La sangre se debe extraer y enviar en un tubo con anticoagulante (EDTAk2). Homogeneizar suavemente, invirtiendo el tubo (alrededor de 6 veces)



5. Exámenes

a) Identificación de anticuerpos

b) Identificación directa del agente

6. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

Sistema gastrointestinal

Dada la importancia de la alimentación en los animales de producción, y la elevada incidencia de problemas que se relacionan con ella, es necesario evaluar el manejo y las instalaciones, así como realizar una inspección de los alimentos, depósitos y áreas de pastoreo. Las características de la alimentación y su manejo pueden ser el origen de muchos problemas, principalmente digestivos y metabólicos. Para investigar la causa del trastorno, además del examen clínico general, son muy importantes los exámenes complementarios de muestras del alimento, líquido ruminal, sangre y/o heces para el reconocimiento y la diferenciación de las enfermedades de los órganos digestivos.

Principales enfermedades del sistema gastrointestinal y especies afectadas

ENFERMEDADES	ESPECIES AFECTADAS				
TGE Gastroenteritis Transmisible	–	X	–	–	–
Enteritis bacterianas (Colibacilosis, salmonelosis, campilobacteriosis)	X	X	X	X	X
Disentería porcina (*Brachyspira hyodysenteriae*)	–	X	–	–	–
Enterotoxemia (*Clostridium perfringens*)	X	X	X	X	X
Isosporosis (*Isospora suis*)	–	X	–	–	–
Verminosis o Helmintiasis	X	X	X	X	X
Rotavirosis en animales jóvenes	X	X	X	X	X
Diarrea Viral Bovina	X	–	–	–	–
Fiebre Catarral Maligna	X	–	–	–	–
Intoxicaciones	X	X	X	X	X

Material para la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema gastrointestinal

Guantes para palpación

Colector universal estéril

Guantes de látex

Sonda gástrica

Tubos de vacío con rosca para extracción de sangre, con gel separador, con y sin anticoagulante (EDTA y heparina)

Bolsa plástica estéril

Tubo tipo KMA (tapa de rosca)

Tubo con tapa de rosca

Adaptadores para extracción de sangre en vacío

Aguja para extracción de sangre en vacío

Microtubos tipo "Eppendorf"

Sistema para extracción de sangre en vacío

Jeringa y agujas esterilizadas

Muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema gastrointestinal

1. Material

Contenido ruminal

2. Cómo recolectar

Por sonda gástrica o rumenocentesis

Introducir la sonda gástrica por vía oral y retirar el líquido ruminal, creando vacío mediante un sistema manual o bomba eléctrica. En el caso de la rumenocentesis, se debe realizar la punción en el abdomen izquierdo del animal, en el punto medio entre la última costilla y la articulación fémoro-tibio-rotuliana. Realizar tricotomía y antisepsia en un área de 5cm x 5cm. Aplicar de 2 a 3 mL de lidocaína subcutánea, al 2%. Introducir la cánula ventrocraneal y aspirar el contenido con una jeringa de 20 mL. Si se produjera una obstrucción de la aguja, inyectar aire con otra jeringa. Obtener de 3 a 10 mL de líquido ruminal. Antes de retirar la aguja, introducir 5 mL de solución fisiológica estéril, para evitar adherencia. Finalmente, retirar la jeringa y la aguja, de forma suave y conjunta.









3. Cantidad

Alrededor de 10 mL

4. Medio

Ninguno



5. Recipiente

Frasco estéril

6. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C) o Congelada (-20°C)

NOTA

Enfriar o congelar lo más rápido posible después de la recolección y hacer llegar la muestra al laboratorio en esas condiciones.

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Toxicológicos

1. Material

Heces

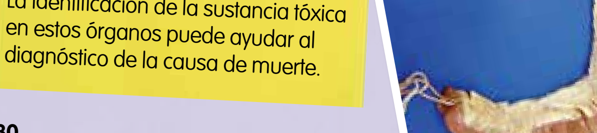
2. Cómo recolectar

Directamente del recto (utilizando guantes) o de la porción central del bolo fecal (utilizando espátula), inmediatamente después de la defecación



NOTA

En el caso de material de necropsia, enviar un fragmento de las asas intestinales con el contenido fecal, atando los extremos con cordel. Además de eso, enviar fragmentos del hígado y del riñón, una parte refrigerada para exámenes toxicológicos y otra parte en formol al 10% para exámenes histopatológicos. La identificación de la sustancia tóxica en estos órganos puede ayudar al diagnóstico de la causa de muerte.



3. Cantidad

20 g de heces por animal. En el caso de rebaños, recolectar 10 a 15 muestras de cada franja etaria. Utilizar un frasco por animal.



4. Medio

Ninguno

5. Recipiente

Colector universal estéril

6. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Identificación directa del agente

1. Material

Alimentos para nutrición animal

2. Qué recolectar

Pienso comercial, granos, forraje fresco y conservado (ensilado y heno), restos de cultivos, paja y suplementos

3. Cómo recolectar

Retirar muestras parciales de cada alimento que se analizará, recolectadas en distintos puntos del lugar de interés: campo, depósitos, sacos, comederos, silos etc. Después de la homogeneización, retirar de esa muestra media una muestra única, que debe ser representativa de la media del material que se analizará.

NOTA
Nunca retirar la muestra de un único punto, ya que no será representativa y no permitirá conclusiones en cuanto a la calidad del producto.



4. Cantidad

a) 1 kg para pienso, granos y concentrados, entre otros alimentos.

b) 2 kg para alimentos voluminosos, como ensilado, heno, y para alimentos que tienden a separarse como pienso y concentrados que contienen urea, harina de semillas de algodón, entre otros productos.

NOTA
Realizar las recolecciones en varios puntos, principalmente para productos que no presentan una perfecta homogeneidad o que tienden a la separación.

5. Recipiente

Bolsas plásticas resistentes para productos sólidos

Frascos de polietileno para productos líquidos (melaza, grasa)

6. Temperatura de la muestra para transporte

a) Ambiente (material seco)

b) Refrigerada (+2°C a +8°C) para material verde o húmedo

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Análisis química e identificación del agente (toxinas y bacterias, entre otros)

1. Material

Sangre

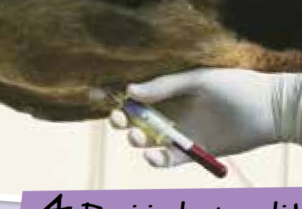
2. Dónde recolectar

a) Vena yugular;
b) Vena coccígea;
c) Vena mamaria; y
d) en porcinos, vena cava craneal



3. Cómo recolectar

Utilizar sistema de vacío o jeringa y aguja





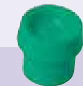
4. Recipiente y cantidad

a) TTubo de ensayo sin anticoagulante: capacidad 10 mL.





b) Tubo de ensayo con EDTA K2: capacidad 5 mL.



c) Tubo de ensayo con heparina: capacidad 5 a 10 mL.

a) Obtención de suero

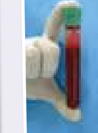
Extraer la sangre en un tubo sin anticoagulante; mantener el tubo inclinado a temperatura ambiente hasta que se coagule la sangre, se retraiga el coágulo, y exude el suero (30 a 60 min). Transferir el suero a otro tubo (tapón de rosca o tipo "Eppendorf"). Si se utiliza tubo con gel separador, será necesario centrifugar la sangre como mínimo 30 minutos y como máximo 2 horas después de la extracción, y enviar el suero en el mismo tubo.

b y c) Sangre total

La sangre se debe extraer y enviar en un tubo con anticoagulante (EDTAk2). Homogeneizar suavemente, invirtiendo el tubo (alrededor de 6 veces)



EDTA



Heparina

5. Exámenes

a) Identificación de anticuerpos

b) Identificación directa del agente

c) Toxicológicos y bioquímicos

6. Temperatura de la muestra para transporte

a, b y c) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

Sistema reproductor y urinario

Los problemas reproductivos están asociados con repetición del celo, infertilidad, descarte prematuro de reproductores, aborto, momificación del feto, nacimiento de becerros con malformaciones y débiles, entre otros factores. La etiología de las enfermedades reproductivas es multifactorial, y la causa puede ser infecciosa o no infecciosa y requerir diagnóstico diferencial para la identificación del agente. Por ese motivo, se deben examinar prioritariamente muestras de tejidos fetales refrigerados y fijados en formol, secreciones cervicovaginales y prepuciales. La identificación de anticuerpos en el suero sanguíneo puede ayudar al diagnóstico.

Principales enfermedades del sistema reproductor y urinario y especies afectadas

ENFERMEDADES	ESPECIES AFECTADAS				
Brucelosis	X	X	X	X	X
Leptospirosis	X	X	X	X	X
Campilobacteriosis Genital	X	–	–	–	–
Micoplasmosis	X	X	X	X	X
Neosporosis	X	–	X	X	X
Toxoplasmosis	X (raro)	X	X	X	X
Tricomoniasis Genital Bovina	X	–	–	–	–
Rinotraqueitis infecciosa bovina/ Vulvovaginitis pustular infecciosa	X	–	–	–	–
Diarrea viral bovina	X	–	–	–	–
Parvovirosis	–	X	–	–	–
Enfermedad de Aujeszky	–	X	–	–	–
Peste porcina clásica	–	X	–	–	–
Síndrome reproductivo y respiratorio porcino (SRRP)	–	X	–	–	–
Circovirosis	–	X	–	–	–
Clamidiosis	X	–	X	–	–
Arteritis viral equina	–	–	–	–	X
Aborto por herpesvirus equino	–	–	–	–	X

Material para la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema reproductor y urinario

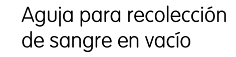


Hisopo estéril

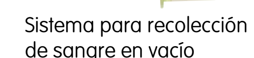
Hisopo estéril

Pipeta de inseminación artificial

Hisopo acoplado a la pipeta de inseminación artificial



Aguja para recolección de sangre en vacío



Sistema para recolección de sangre en vacío



Medios para el transporte de secreciones (BHI, A3XB, Eagle y Lactopep)



Tubos de vacío para recolección de sangre, con gel separador, con y sin anticoagulante

Bolsa plástica

Colector universal estéril

Tabla para corte de órganos

Piedra para afilar cuchillos

Tijera para separar huesos

Cuchillos

Tubo con tapa de rosca

Microtubos tipo “Eppendorf”

Papel absorbente

Tubo tipo KMA (tapa de rosca)

Pajillas de semen

Gasa

Muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema reproductor y urinario

1. Material

Fetos de hasta 2Kg

2. Qué recolectar

Feto completo



Feto ovino



Fetos porcinos



Feto bovino



Feto caprino

3. Recipiente

Bolsa plástica (como mínimo 3 bolsas para cada feto)

4. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

5. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

NOTA

- No congelar
- El laboratorio hará la autopsia y extraerá las muestras para los distintos exámenes.
- Extraer suero sanguíneo de la hembra que abortó.

6. Exámenes

Identificación directa e indirecta del agente y examen histopatológico

1. Material

Feto y mortinato con más de 2 Kg

2. Qué recolectar

Hígado, pulmón, bazo, sistema nervioso central, corazón, riñón, timo y líquidos corporales (líquido torácico y abdominal o pericárdico y contenido gástrico)

Recolección de contenido gástrico

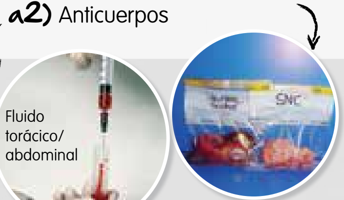
3. Cómo recolectar

Realizar la autopsia y recolectar los fragmentos de los órganos con pinza y tijera esterilizadas. Elegir una porción del órgano con lesión, y si no hubiera lesión, recolectar aleatoriamente. Extraer los fluidos corporales con jeringa y aguja esterilizadas

4. Exámenes

a1) Identificación directa del agente
a2) Anticuerpos

b) Histopatológico


Fluido torácico/ abdominal



5. Cantidad

a1) Fragmentos de cada órgano, aproximadamente 20 g
a2) 3 mL de cada fluido

b) Un fragmento de cada órgano de aproximadamente 3x3x1 cm

6. Medio

a) Ninguno

b) Órganos fijados con formol tamponado 10% (volumen de formol, por lo menos 10 veces el volumen del tejido que se fijará).

7. Recipiente

a1) Órganos: bolsa plástica o colector universal.
a2) Fluido: tubo de ensayo esterilizado o colector universal

b) Frasco; capacidad de acuerdo con el tamaño del fragmento

8. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C)

b) Ambiente o Refrigerada (+2°C a +8°C). **Nunca congelar**

9. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 48 horas

b) Enviar en el mismo tiempo que la muestra refrigerada. **Los fragmentos en solución de formol 10%, aunque no estén totalmente fijados, pueden enviarse al laboratorio**

1. Material

Placenta

2. Cómo recolectar

Elegir siempre áreas de transición del tejido con y sin lesión. En los rumiantes, recolectar algunas carúnculas



3. Exámenes

a) Identificación directa del agente | **b)** Examen histopatológico



4. Cantidad

a) 20 g | **b)** Fragmento de 3x3x1 cm

5. Medio

a) Ninguno | **b)** Formol tamponado 10% (volumen de formol, por lo menos 10 veces el volumen del tejido que se fijará)

6. Recipiente

a) Bolsa plástica o colector universal | **b)** Frasco; capacidad de acuerdo con el tamaño del fragmento

7. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C) | **b)** Ambiente o Refrigerada (+2°C a +8°C). **Nunca congelar**

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 48 horas | **b)** Enviar en el mismo tiempo que la muestra refrigerada. **Los fragmentos en solución de formol 10%, aunque no estén totalmente fijados, pueden enviarse al laboratorio**

1. Material

Semen


FOTO: CRVLAGOA

2. Cómo recolectar

Excitar al toro con una hembra o con electroeyaculador. Recolectar el semen, utilizando una vagina artificial


FOTO: CRVLAGOA

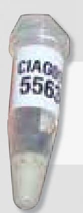


3. Cantidad

Semen *in natura*: 0,5 mL
Semen industrializado: 10 pajillas de 0,5 mL

4. Recipiente

Pajilla o tubo de ensayo esterilizado



5. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

NOTA

- El volumen de semen que se deberá enviar al laboratorio depende de los análisis a realizar; en caso de dudas, consultar al laboratorio
- Identificar las muestras en forma individual.

6. Tiempo crítico para llegar al laboratório

Hasta 48 horas

7. Exámenes

Identificación directa del agente

1. Material

Esmegma prepucial

2. Dónde recolectar

Cavidad prepucial

NOTA

- Antes de la recolección, mantener al toro en reposo sexual como mínimo 07 días.
- Evitar la contaminación del esmegma con la orina.
- Cuando corresponda, realizar primero el hisopado prepucial y luego proceder al lavado.
- Solicitar al laboratorio los medios adecuados.

3. Cómo recolectar

Técnica del hisopo:
Realizar tricotomía en el orificio prepucial y lavar externamente el prepucio, solo con agua, y secar con papel absorbente. Recolectar el esmegma introduciendo un hisopo estéril acoplado a una pipeta de inseminación artificial en el fondo de saco prepucial. Frotar el hisopo en la mucosa prepucial y peneana. Retirar el hisopo y sumergirlo en el medio para el transporte adecuado. Utilizar un hisopo para cada muestra.





4. Exámenes

a) Identificación de virus | **b)** Identificación de bacterias | **c)** Identificación de *Tritrichomonas foetus*

5. Medio

a) Sumergir el hisopo en 2 mL de Eagle 2X, concentrado, con antibiótico

b) Sumergir el hisopo en 2 mL de: Tioglicolato de sodio o BHI (*Campylobacter* spp), A3xB *Mycoplasma* spp) y Cary Blair (otras bacterias)

c) Sumergir el hisopo en 10 mL de Lactopep (0,5 g de Lactopep para 10 mL de solución salina 0,85%)



6. Recipiente

Tubo de ensayo

7. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C) | **c)** Ambiente

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a y b) Hasta 48 horas | **c)** hasta 6 días

1. Material

Esmegma prepucial

2. Dónde recolectar

Cavidad prepucial

3. Cómo recolectar

Técnica de lavado prepucial:
Realizar tricotomía en el orificio prepucial y lavar externamente el prepucio solo con agua. Secar con papel absorbente. Lavar la cavidad prepucial, utilizando una pipeta de inseminación artificial acoplada a un tubo flexible conectado a una jeringa con 40 mL de solución salina estéril al 0,85%. Introducir la pipeta hasta el fondo de saco prepucial e inyectar el volumen total de solución salina. Retirar la pipeta y obturar el orificio prepucial con una de las manos y, con la otra, masajear vigorosamente el prepucio durante un minuto. Liberar el orificio prepucial y recoger el líquido en el frasco que contiene el medio Lactopep (en polvo). Homogeneizar y completar el volumen con solución salina, hasta obtener 40 mL





NOTA

- Antes de la recolección, mantener al toro en reposo sexual de 07 a 10 días.
- Evitar la contaminación del esmegma con la orina.
- Es necesario realizar 3 recolecciones como mínimo, con intervalos de 7 días, manteniendo el reposo sexual.

4. Cantidad

40 mL de solución salina al 0,85%

5. Medio

Lactopep (proporción: 2 g/40 mL de solución salina)

6. Recipiente

Tubo cónico

7. Temperatura de la muestra para transporte



Ambiente

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 06 dias



9. Examen

Identificación de *Tritrichomonas foetus*

1. Material

Moco cervicovaginal

2. Dónde recolectar

Cavidad vaginal

3. Cómo recolectar

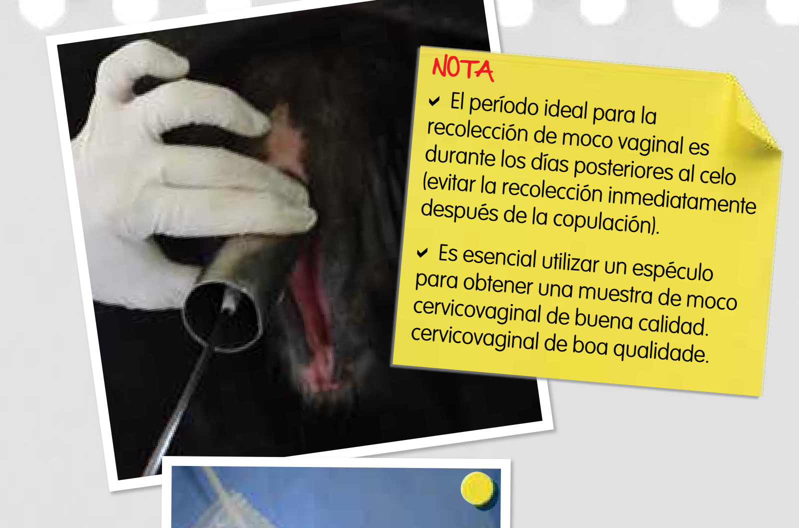
Lavar la región vulvar solo con agua y secar con papel absorbente. Adaptar el hisopo a una pipeta de inseminación artificial y, con ayuda de un espéculo, introducir el hisopo en la vulva hasta el cuello uterino. Friccionar la mucosa, retirar el hisopo y sumergirlo en un tubo de ensayo que contenga el medio de transporte. Utilizar un hisopo para cada muestra.

4. Exámenes

a)	**b)**	**c)**
Identificación de virus	Identificación de bacterias	Identificación de *Tritrichomonas foetus*

5. Medio

a)	**b)**	**c)**
Sumergir el hisopo en 2 mL de Eagle 2X, concentrado con antibiótico	Sumergir el hisopo en 2 mL de: Tioglicolato de sodio o BHI (*Campylobacter* spp), A3xB (*Mycoplasma* spp) y Cary Blair (otras bacterias)	Sumergir el hisopo en 10 mL de Lactopep (0,5 g de Lactopep para 10 mL de solución salina 0,85%)



NOTA

- El período ideal para la recolección de moco vaginal es durante los días posteriores al celo (evitar la recolección inmediatamente después de la copulación).
- Es esencial utilizar un espéculo para obtener una muestra de moco cervicovaginal de buena calidad. cervicovaginal de boa qualidade.

6. Recipiente

Tubo de ensayo esterilizado que contenga el medio adecuado

7. Temperatura de la muestra para transporte

a y b)	**c)**
Refrigerada (+2°C a +8°C)	Ambiente

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a y b)	**c)**
Hasta 48 horas	Hasta 6 dias

1. Material

Orina



2. Dónde recolectar

Se puede obtener una muestra de orina de la micción espontánea, de la micción inducida, por punción vesical o mediante cateterismo uretral en hembras.

3. Cómo recolectar

Antes de la recolección, higienizar la región de la vulva o prepucio con agua y jabón, enjuagar y secar con papel absorbente.
Recolectar el chorro medio de la orina con colector universal estéril.

Existen varios procedimientos para inducir la micción:
- Obstruir los ojos y la boca de pequeños rumiantes, durante unos segundos, tanto en hembras como en machos, estimula la eliminación de orina.
- Se induce la micción en toros mediante un masaje suave y rítmico del orificio prepucial y, en las vacas, mediante un masaje de la vulva. Advertimos que estos métodos solo funcionan cuando la vejiga está llena.
- El uso de furosemida (diurético) por vía intravenosa favorece la micción dentro de los 10 a 15 minutos, pero no se debe utilizar en animales con sospecha de urolitiasis.

4. Exámenes

a) Identificación de *Leptospira* spp.

b) Identificación de *Brucella* spp.

c) Técnicas de biología molecular

5. Medio y cantidad

a) Medio de Fletcher. Colocar 1 mL de orina en 9 mL de solución salina tamponada, pH 7,2 e inocular 2 mL de la dilución en un tubo con medio de Fletcher.

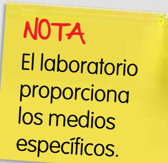
b) BHI. Colocar 1 mL de la orina en 3 mL en un tubo que contenga el medio de transporte (BHI).

c) Ninguno. Enviar el resto de la orina, alrededor de 20 mL.

6. Recipiente

a y b) Tubo de ensayo que contenga el medio adecuado

c) Colector universal estéril



NOTA
El laboratorio proporciona los medios específicos.



7. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

1. Material

Sangre

2. Dónde recolectar

a) Vena yugular;
b) Vena coccígea;
c) Vena mamaria; y
d) en porcinos, vena cava craneal



3. Cómo recolectar

Utilizar sistema de vacío o jeringa y aguja



4. Recipiente y cantidad

a) Tubo de ensayo sin anticoagulante: capacidad 10 mL.



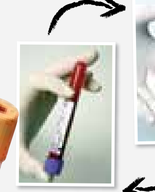
b) Tubo de ensayo con EDTA K2: capacidad 5 mL.

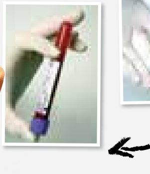
a) Obtención de suero

Extraer la sangre en un tubo sin anticoagulante; mantener el tubo inclinado a temperatura ambiente hasta que se coagule la sangre, se retraiga el coágulo, y exude el suero (30 a 60 min). Transferir el suero a otro tubo (tapón de rosca o tipo "Eppendorf"). Si se utiliza tubo con gel separador, será necesario centrifugar la sangre como mínimo 30 minutos y como máximo 2 horas después de la extracción, y enviar el suero en el mismo tubo.

b) Sangre total

La sangre se debe extraer y enviar en un tubo con anticoagulante (EDTAk2). Homogeneizar suavemente, invirtiendo el tubo (alrededor de 6 veces)





5. Exámenes

a) Identificación de anticuerpos

b) Identificación directa del agente

6. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

Sistemas circulatorio y linfático

Las enfermedades del sistema circulatorio y linfático producen signos clínicos diversos, tales como edema subcutáneo, coloración anormal de las mucosas (palidez, cianosis, congestión e ictericia), hemorragias (petequias y sufusiones) en la piel y en los órganos internos, edema de órganos, principalmente pulmonar y cerebral. Esos signos son causados por la acción de algunos patógenos que lesionan el endotelio y pueden causar dificultad respiratoria, cansancio, anorexia, apatía y postración en el animal. El diagnóstico diferencial utiliza fragmentos de órganos refrigerados y fijados en formol, sangre con anticoagulante y suero sanguíneo.

Principales enfermedades de los sistemas circulatorio y linfático y especies afectadas

ENFERMEDADES	ESPECIES AFECTADAS				
Peste Porcina Clásica	–	X	–	–	–
Peste Porcina Africana	–	X	–	–	–
Circovirosis	–	X	–	–	–
Diarrea viral bovina	X	–	–	–	–
Carbunco Hemático (Antrax)	X	X	X	X	X
Hemoglobinuria bacilar	X	–	X	X	–
Leptospirosis	X	X	X	X	X
Erisipela	–	X	–	–	–
Enfermedad del Edema	–	X	–	–	–
Babesiosis (protozoarios sanguíneos)	X	X	X	X	X
Anaplasmosis	X	–	X	X	–
Púrpura hemorrágica	X	X	–	–	X
Anemia infecciosa equina	–	–	–	–	X

Material para la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades de los sistemas circulatorio y linfático







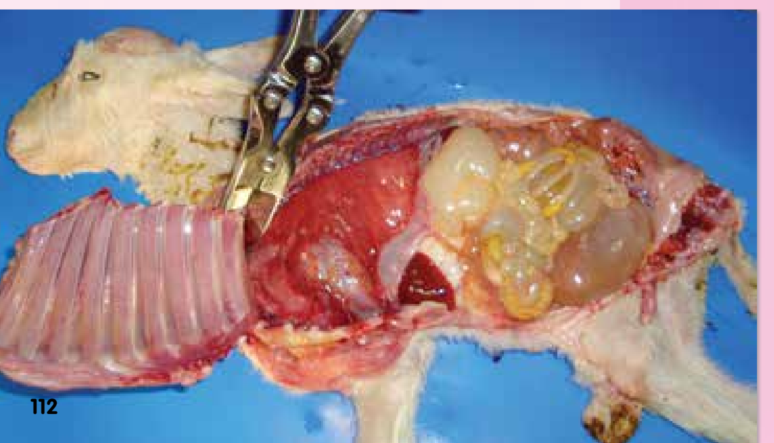
Muestras para el diagnóstico de enfermedades de los sistemas circulatorio y linfático

1. Material

Órganos - sistema nervioso central, hígado, bazo, pulmón, riñón, corazón, linfonodos e intestino delgado y grueso

2. Cómo recolectar

Realizar la autopsia y extraer los fragmentos con tijera o bisturí y pinza esterilizados, evitando dañar el tejido al hacerlo. Elegir una porción del órgano con lesión, y si no hubiera lesión, recolectar aleatoriamente. Seleccionar la porción del intestino delgado con contenido, ligar y cortar. Extraer los linfonodos linfáticos regionales.



3. Exámenes

a Identificación directa del agente

Riñón

Pulmón

Corazón

Hígado

Bazo

Linfonodo

Asa intestinal ligada

Fragmentos de órganos que se enviarán al laboratorio, refrigerados.

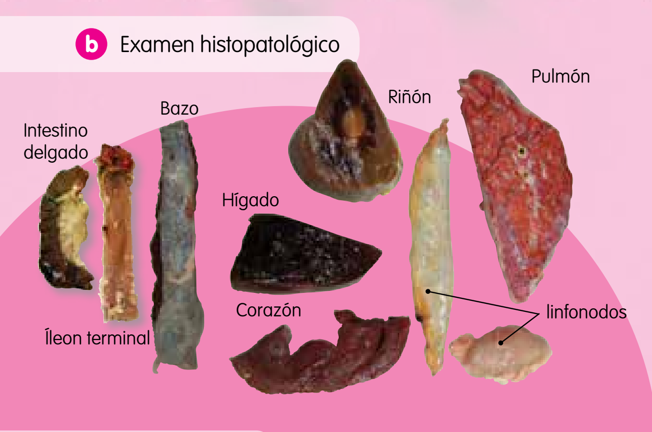
Uno de los hemisferios cerebrales

cerebelo

Médula cervical

Corte del tálamo

b Examen histopatológico



Fragmentos de órganos que se enviarán al laboratorio, fijados en formol

Otro hemisferio cerebral



Tronco encefálico



Mitad del cerebelo



4. Cantidad

a1) Fragmentos de 20 g de cada órgano **a2)** 10 a 30 cm de intestino delgado (asa ligada)	**b1)** Fragmentos de 3x1x1cm de cada órgano **b2)** 10 cm de órgano tubular (íleon con placas de Peyer)

5. Medio

a) Ninguno	**b)** Formol tamponado 10% (volumen de formol, por lo menos 10 veces el volumen del tejido que se fijará)

6. Recipiente

a) Bolsa plástica o colector universal	**b)** Frasco; capacidad de de acuerdo con el tamaño del fragmento

ATENCIÓN
Colocar cada órgano en envases individuales para identificación de agentes



a Fragmentos de SNC y otros órganos, en bolsas plásticas esterilizadas (refrigerados)



b Tejidos fijados en formol

7. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C)	**b)** Ambiente o Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 48 horas	**b)** Enviar en el mismo tiempo que la muestra refrigerada. **Los fragmentos en solución de formol 10%, aunque no estén totalmente fijados, pueden enviarse al laboratorio**

1. Material

Sangre capilar y venosa



2. Dónde recolectar

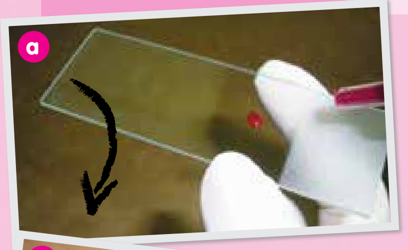
Preferentemente sangre periférica mediante punción de capilares en la punta de la oreja

3. Como realizar el frotis de sangre

1. Mantener la lámina portaobjeto en forma horizontal entre el pulgar y el índice.
2. Colocar una pequeña gota de sangre sin anticoagulante en un extremo de la lámina. (figura a)
3. Colocar una segunda lámina (extensora) contra la superficie de la lámina, adelante de la gota de sangre, formando un ángulo de 45°.
4. Desplazar la lámina hacia atrás, como para que entre en contacto con la gota de sangre, presionándola hasta que la gota se expanda por todo el borde de la lámina. (figura b)
5. Deslizar la lámina, manteniendo siempre el mismo ángulo, en un solo movimiento firme y uniforme, sin separar una lámina de la otra. Se forma así una delgada capa de sangre. (figura c)
6. Secar rápidamente al aire e identificar con lápiz.
7. Fijar por dos minutos en alcohol metílico, retirar y secar.
8. Enviar al laboratorio en portaobjetos.

NOTA
Se puede incrementar la sensibilidad de la técnica realizando los frotis sanguíneos mediante punción de los capilares de la punta de la oreja.

Preparación de un frotis sanguíneo en campo, inmediatamente después de la recolección de la muestra.



4. Cantidad

Tres láminas por animal

5. Medio

Ninguno

6. Recipiente

Transportar en cajas o frascos de paredes rígidas y con ranuras adecuadas para la fijación de los portaobjetos

7. Temperatura de la muestra para transporte

Ambiente

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas



9. Exámenes

Identificación de hemoparásitos

1. Material

Sangre

2. Dónde recolectar

a) Vena yugular;
b) Vena coccígea;
c) Vena mamaria; y
d) en porcinos, vena cava craneal



3. Cómo recolectar

Utilizar sistema de vacío o jeringa y aguja



4. Recipiente y cantidad

a) Tubo de ensayo sin anticoagulante: capacidad 10 mL.



b) Tubo de ensayo con EDTA K2: capacidad 5 mL.

a) Obtención de suero

Extraer la sangre en un tubo sin anticoagulante; mantener el tubo inclinado a temperatura ambiente hasta que se coagule la sangre, se retraiga el coágulo, y exude el suero (30 a 60 min). Transferir el suero a otro tubo (tapón de rosca o tipo "Eppendorf"). Si se utiliza tubo con gel separador, será necesario centrifugar la sangre como mínimo 30 minutos y como máximo 2 horas después de la extracción, y enviar el suero en el mismo tubo.

b) Sangre total

La sangre se debe extraer y enviar en un tubo con anticoagulante (EDTAk2). Homogeneizar suavemente, invirtiendo el tubo (alrededor de 6 veces)



5. Exámenes

a) Identificación de anticuerpos

b) Identificación directa del agente

6. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

Sistema osteoarticular

La evaluación de problemas osteoarticulares debe considerar la posibilidad de alteraciones del encéfalo y del aparato locomotor, teniendo presente que los signos clínicos pueden originarse debido a anomalías de un sistema o del otro. Al realizar el diagnóstico diferencial, se debe considerar artrosis y artritis séptica, malformaciones de las extremidades, traumatismos en el parto o causados por accidentes. El material clínico de elección para la identificación de agentes infecciosos es el líquido sinovial. El suero sanguíneo puede ayudar al diagnóstico.

Principales enfermedades del sistema osteoarticular y especies afectadas

ENFERMEDADES	ESPECIES AFECTADAS				
CAE (artritis-encefalitis caprina)	–	–	–	X	–
Maedi-Visna	–	–	X	–	–
Brucelosis	X	X	X	X	X
Clamidiosis (*Chlamydophila psittaci* y *pecorum*)	–	–	X	X	–
Tuberculosis	X	X	X	X	X
Micoplasmosis	X	X	X	X	X
Erisipela porcina	–	X	–	–	–
Artritis causadas por bacterias piógenas y entero-bacterias	X	X	X	X	X

Material para la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema osteoarticular



Jeringa y agujas

Aguja para extracción de sangre en vacío

Sistema para extracción de sangre en vacío

Tubos de vacío para extracción de sangre, con gel separador, con y sin anticoagulante

Tubo tipo KMA (tapa de rosca)

Microtubos tipo "Eppendorf"

Hisopo estéril

Hisopo estéril

Algodón

Productos para antisepsia

Material para tricotomía

Muestra para el diagnóstico de enfermedades del sistema osteoarticular

1. Material

Líquido sinovial

2. Dónde recolectar

Articulaciones afectadas
- escapulohumeral, coxofemoral y articulaciones del carpo y del tarso





Punción de la articulación del carpo en un ovino con artritis

3. Cómo recolectar

1º Sedar al animal;
2º Realizar tricotomía y desinfección en la región de la punción;
3ª Contener al animal para evitar movimientos bruscos;
4º Punzar la articulación afectada, utilizando jeringas con agujas de 0,8 mm de diámetro y 40 mm de largo para las articulaciones escapulohumeral y coxofemoral y con agujas más cortas para articulaciones del carpo y del tarso;
5º Posteriormente, dividir la muestra entre un tubo con anticoagulante, para el estudio citológico, y otro tubo sin anticoagulante, para la identificación directa del agente;
6º Retirar la aguja y aplicar un vendaje en el lugar de la punción.



El líquido sinovial normal es incoloro y muy viscoso

NOTA
El suero sanguíneo puede ayudar al diagnóstico de algunas enfermedades osteoarticulares.

Líquido sinovial de aspecto sanguinolento en un caso de artritis

NOTA
Si la lesión supura, recolectar el exudado con hisopo, utilizando los medios específicos para cada situación.

4. Cantidad

Mínimo 1,5 mL

5. Recipiente

Tubo estéril

6. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Identificación directa del agente y citológico

1. Material

Sangre

2. Dónde recolectar

a) Vena yugular;
b) Vena coccígea;
c) Vena mamaria; y
d) en porcinos, vena cava craneal



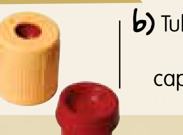
3. Cómo recolectar

Utilizar sistema de vacío o jeringa y aguja



4. Recipiente y cantidad

a) Tubo de ensayo sin anticoagulante: capacidad 10 mL.



b) Tubo de ensayo con EDTA K2: capacidad 5 mL.

a) Obtención de suero

Extraer la sangre en un tubo sin anticoagulante; mantener el tubo inclinado a temperatura ambiente hasta que se coagule la sangre, se retraiga el coágulo, y exude el suero (30 a 60 min). Transferir el suero a otro tubo (tapón de rosca o tipo "Eppendorf"). Si se utiliza tubo con gel separador, será necesario centrifugar la sangre como mínimo 30 minutos y como máximo 2 horas después de la extracción, y enviar el suero en el mismo tubo.

b) Sangre total

La sangre se debe extraer y enviar en un tubo con anticoagulante (EDTAk2). Homogeneizar suavemente, invirtiendo el tubo (alrededor de 6 veces)



5. Exámenes

a) Identificación de anticuerpos

b) Identificación directa del agente

6. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

Sistema nervioso central (SNC)

La importancia de las enfermedades del sistema nervioso central (SNC) se acrecentó luego de la aparición de la encefalopatía espongiforme bovina (EEB), por tratarse de una zoonosis. A partir de ese momento aumentaron exponencialmente los conocimientos sobre ese tipo de enfermedades. La patología del sistema nervioso es compleja debido a la gran variabilidad anatómica de sus estructuras: encéfalo (cerebro, tronco encefálico y cerebelo) y médula espinal, que actúan de forma integrada para controlar las funciones del organismo. Las bacterias, los virus, los parásitos y los priones, los tumores, las sustancias tóxicas, o los traumatismos, pueden afectar directa o indirectamente el SNC y producir signos clínicos que permiten identificar una disfunción neurológica y, en algunos casos, la localización de la lesión. El compromiso del SNC se manifiesta por alteraciones de las funciones sensitivas, motoras, reflejas, sensoriales y conductuales. Para confirmar la causa de la enfermedad neurológica es necesario realizar el diagnóstico diferencial. Se deben extraer estructuras del encéfalo y de otros órganos para identificación directa del agente y se las debe mantener refrigeradas hasta que lleguen al laboratorio; para el examen histopatológico, se las debe fijar en formol al 10%. La identificación de anticuerpos en el suero sanguíneo puede ayudar al diagnóstico.

Principales enfermedades del sistema nervioso central y especies afectadas

ENFERMEDADES	ESPECIES AFECTADAS				
Rabia	X	X	X	X	X
Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB)	X	–	–	–	–
Scrapie	–	–	X	–	–
Encefalitis Herpética Bovina	X	–	–	–	–
Fiebre Catarral Maligna	X	–	–	–	–
Enfermedad de Aujeszky (Pseudorabia)	X	X	–	–	–
Listeriosis	X	–	X	X	X
Botulismo	X	X	X	X	X
Intoxicaciones (arsénico, plomo, organofosforados, carbamatos y plantas tóxicas)	X	X	X	X	X
Encefalitis herpética equina	–	–	–	–	X
Encefalomielitis equina del este, del oeste y venezolana	–	–	–	–	X
Polioencefalomalacia	X	–	X	X	–
Leucoencefalomalacia equina	–	–	–	–	X

Material para la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema nervioso central (SNC)



Potes de plástico, de boca ancha y tapa de rosca, con capacidad para diferentes volúmenes

Frasco de formol al 35- 40% (para su utilización, diluir una parte de formol en 9 partes de agua)

Bolsa plástica

Sierra de arco

Cizalla

Gancho

Cuchillo

Hacha

Martillo

Cincel

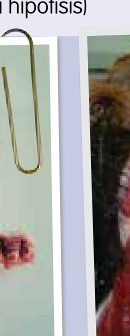
Muestras para el diagnóstico de enfermedades del sistema nervioso central (SNC)

1. Material

SNC completo

2. Cómo recolectar

1° paso: ccon un cuchillo y la ayuda de un gancho, retirar la piel y los músculos de la calota craneal
2° paso: cortar el hueso con hacha, sierra o cincel y martillo
3° paso: seccionar con tijera la duramadre y retirar el encéfalo cortando los nervios craneales
4° paso: enviar el encéfalo completo con la médula espinal cervical y el conjunto hipófisis, ganglios del nervio trigémino y rete mirabile carotídea (capilares que rodean la hipófisis)





NOTA
Nunca congelar, ya que el laboratorio dividirá las porciones para los diferentes exámenes e, inclusive, fijará una parte en formol.

3. Medio

Ninguno

4. Recipiente

Bolsa plástica o frasco; capacidad de acuerdo con el tamaño del órgano

5. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)



6. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

7. Exámenes

Identificación directa del agente y examen histopatológico

1. Material

Estructuras del sistema nervioso central (SNC)

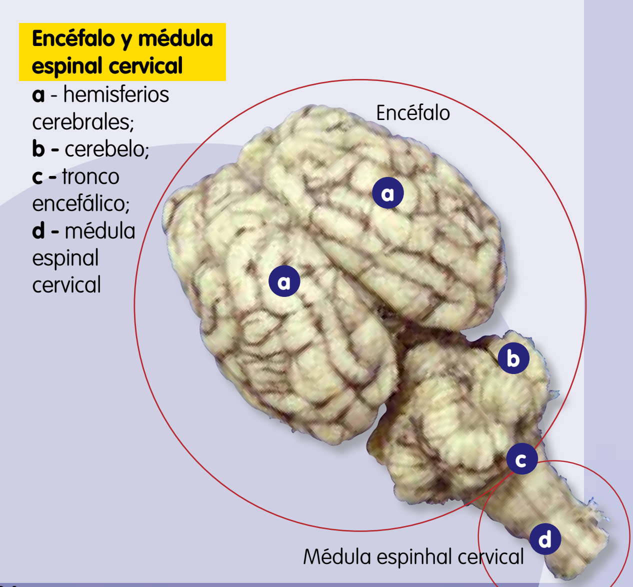
2. Cómo recolectar

Disecar la piel y los músculos de la cabeza. Cortar la calota craneal, utilizando sierra, hacha o cincel y martillo. Con tijera y pinza, seccionar la duramadre y los nervios craneales. Retirar el encéfalo y la médula espinal cervical. Separar las estructuras para los análisis de laboratorio.

3. Estructuras anatómicas del SNC

Encéfalo y médula espinal cervical

a - hemisferios cerebrales;
b - cerebelo;
c - tronco encefálico;
d - médula espinal cervical



4. Paso a Paso para separar el SNC

Separación del cerebelo

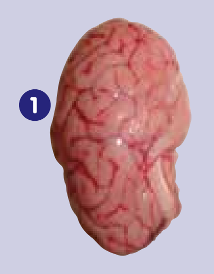
Seccionar los pedúnculos cerebelosos, uno a cada vez, introduciendo una hoja afilada y haciendo un corte rostral y horizontal entre el tronco encefálico y el cerebelo

Separación del tronco encefálico

Separar el tronco encefálico del resto del encéfalo, a la altura del tálamo, de ambos lados

5. Exámenes

a **Estructuras del SNC para identificación directa del agente**







Separar en:
1 - hemisferio cerebral;
2 – mitad del cerebelo;
3 - médula espinal cervical;
4 - tálamo

b **Estructuras del SNC para examen histopatológico**



Separar en:
1 - hemisferio cerebral; **2 -** mitad del cerebelo; **3 -** conjunto de hipófisis, rete mirabile carotídea y ganglio del nervio trigémino; **4 -** tronco encefálico; **5 -** médula espinal cervical

6. Medio

a) Ninguno

b) Formol tamponado 10% (volumen de formol, por lo menos 10 veces el volumen del tejido que se fijará).

7. Recipiente

a) Bolsa plástica o colector universal

b) Frasco de boca ancha con tapa de rosca; capacidad de acuerdo con el tamaño del fragmento

8. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C)

b) Ambiente o Refrigerada (+2°C a +8°C)

9. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 48 horas

b) Enviar en el mismo tiempo que la muestra refrigerada. **Los fragmentos en solución de formol 10%, aunque no estén totalmente fijados, pueden enviarse al laboratorio**

1. Material

Otros órganos - hígado, bazo, pulmón, riñón, corazón, linfonodos, intestino delgado y grueso

NOTA
- En casos de muerte súbita y crepitación muscular, recolectar también fragmentos del músculo afectado.

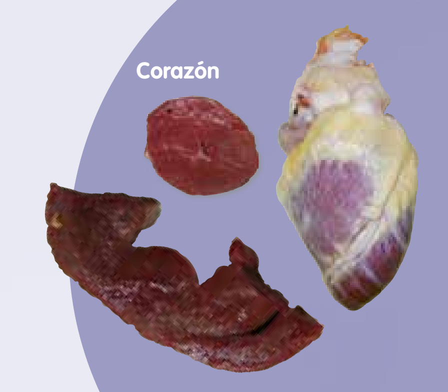
2. Cómo recolectar

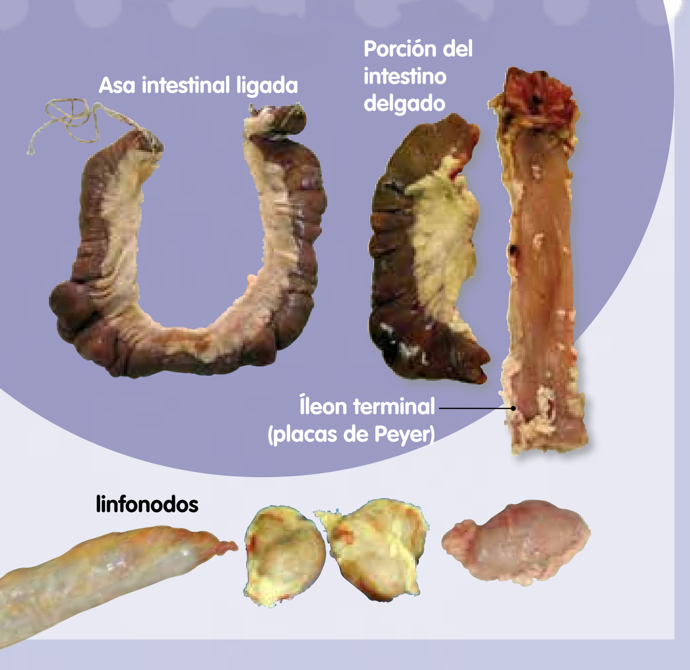
Extraer los fragmentos con tijera o bisturí y pinza esterilizados, evitando dañar el tejido durante la extracción. Elegir una parte del órgano con lesión; si no hay lesión, extraer aleatoriamente. Para el intestino delgado, seleccionar una porción con contenido, ligar y cortar. Extraer los ganglios linfáticos regionales.





NOTA
- Enviar al laboratorio por lo menos un fragmento de cada órgano refrigerado y uno en formol.





3. Exámenes

a) Identificación directa del agente | **b)** Examen histopatológico

4. Cantidad

a1) Fragmentos de 20 g de cada órgano
a2) 10 a 30 cm de intestino delgado (asa ligada).

b1) Fragmentos de 3x1x1cm de cada órgano
b2) 10 cm de órgano tubular (duodeno, yeyuno y porción terminal del íleon)

5. Medio

a) Ninguno | **b)** Formol tamponado 10% (volumen de formol, por lo menos 10 veces el volumen del tejido que se fijará).

6. Recipiente

a) Bolsa plástica o colector universal | **b)** Frasco; capacidad de acuerdo con el tamaño del fragmento.

NOTA
Enviar cada órgano en envases individuales para identificación de agentes



Fragmentos de SNC y otros órganos



Tejidos fijados en formol

7. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+2°C a +8°C) | **b)** Ambiente o Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 48 horas | **b)** Enviar en el mismo tiempo que la muestra refrigerada. **Los fragmentos en solución de formol 10%, aunque no estén totalmente fijados, pueden enviarse al laboratorio**

1. Material

Sangre

2. Dónde recolectar

a) Vena yugular;
b) Vena coccígea;
c) Vena mamaria; y
d) en porcinos, vena cava craneal



3. Cómo recolectar

Utilizar sistema de vacío o jeringa y aguja



4. Recipiente y cantidad

a) Tubo de ensayo sin anticoagulante: capacidad 10 mL.



b) Tubo de ensayo con EDTA K2: capacidad 5 mL.

a) Obtención de suero

Extraer la sangre en un tubo sin anticoagulante; mantener el tubo inclinado a temperatura ambiente hasta que se coagule la sangre, se retraiga el coágulo, y exude el suero (30 a 60 min). Transferir el suero a otro tubo (tapón de rosca o tipo "Eppendorf"). Si se utiliza tubo con gel separador, será necesario centrifugar la sangre como mínimo 30 minutos y como máximo 2 horas después de la extracción, y enviar el suero en el mismo tubo.

b) Sangre total

La sangre se debe extraer y enviar en un tubo con anticoagulante (EDTAk2). Homogeneizar suavemente, invirtiendo el tubo (alrededor de 6 veces)



5. Exámenes

a) Identificación de anticuerpos

b) Identificación directa del agente

6. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas



AVES

Autores
Antonio Guilherme Machado de Castro
Renato Luís Luciano
Ana Maria Iba Kanashiro
Ana Lúcia S. P. Cardoso
Eliana Neire Castiglioni Tessari

Centro Avanzado de Investigación Tecnológica del Agronegocio Avícola (CAPTAA)
Instituto Biológico, Descalvado, SP (APTA/SAA-SP)

Principales enfermedades que afectan a las aves

La avicultura industrial se caracteriza por tener un sistema de cría intensivo que aloja a las aves en galpones para obtener el máximo de productividad. Esa particularidad hace necesario adoptar medidas de bioseguridad con el objetivo de elevar los índices de producción y además prevenir enfermedades. Por esta razón, es imprescindible el diagnóstico y el monitoreo frecuente del estado sanitario de los planteles avícolas.



Las principales enfermedades que afectan a las aves son:
Salmonelosis
Micoplasmosis
Influenza Aviar
Enfermedad de Newcastle
Bronquitis Infecciosa
Laringotraqueítis
Enfermedad de Gumboro
Anemia Infecciosa
Colibacilosis
Coccidiosis
Clostridiosis

La mayor parte de estas enfermedades no ocurren aisladamente, habiendo una interacción entre diversos patógenos, con la posibilidad de que ocurran asociaciones simultáneas de varias enfermedades dentro de un mismo lote, lo que acarrea elevadas pérdidas económicas.

IMPORTANTE

En casos de sospecha de **Enfermedad de Newcastle e Influenza Aviar** de alta patogenicidad, se deberá notificar inmediatamente al Servicio Veterinario Oficial, ya que es el único autorizado para recolectar las muestras.

Material para toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades de las aves

Frasco con agua peptonada

Bolsa de muestras con agua peptonada

Frasco recolector

Hisopos

Gasa

Gasa para hisopos de arrastre

Palillos esterilizados

Bolsa plástica para recolección

Cubre calzado

Frasco para envío de muestras histopatológicas

Tijera para trinchar

Tijera

Pinza

Plástico

Formol 10%

Guantes

Bolígrafo

Jeringa y aguja

Frascos para recolección de sangre

Pipeta Pasteur

Microtubos tipo "Eppendorf"

Muestras para el diagnóstico de enfermedades de las aves

1. Material

Sangre
(para obtención de suero)

2. Dónde recolectar

Aves adultas:
punción cardíaca o vena cubital (ala)
Aves de 1 día:
punción cardíaca o vena yugular (decapitación)





3. Cómo recolectar sangre para la obtención de suero

AVES ADULTAS

Vena cubital (ala): Colocar al ave en decúbito lateral para realizar la extracción en la vena cubital (vena del ala). Extraer la sangre utilizando una jeringa desechable de 5 mL mediante punción venosa; transferir a frascos de vidrio o tubo de ensayo de 10 mL, limpios y secos, sin anticoagulante.

AVES DE 1 DÍA

Decapitación: Después de insensibilizar al animal, con ayuda de una tijera, proceder a la técnica de seccionar la primera vértebra cervical (decapitación). Recolectar la sangre en un frasco de vidrio o tubo de ensayo (10 mL), limpio y seco, sin anticoagulante.

AVES ADULTAS Y AVES DE 1 DÍA

Punción cardíaca: Realizar la contención del ave inmovilizando las patas y las alas con una de las manos y punzar en el medio de la "región de la quilla" (base del esternón), donde hay un "vacío", cuidando de no alcanzar el pulmón. Introducir la jeringa con la aguja en el pecho del ave de forma perpendicular al punto de entrada y paralelo a la columna vertebral, hasta alcanzar el corazón. Tirar lentamente del émbolo hasta obtener la cantidad deseada. Transferir a frascos de vidrio o a un tubo deensayo de 10 mL, limpios y secos, sin anticoagulante.

Después de la extracción de la sangre del ave por punción cardíaca, venosa u otros métodos de práctica, mantener el frasco o el tubo inclinado a temperatura ambiente para que la sangre coagule y libere el suero; transferir la muestra de suero a un microtubo tipo "Eppendorf" o a otro frasco de vidrio.

4. Cantidad

Sangre para obtención de suero: 4,0 mL por ave
Suero: 1 mL por ave

5. Recipiente

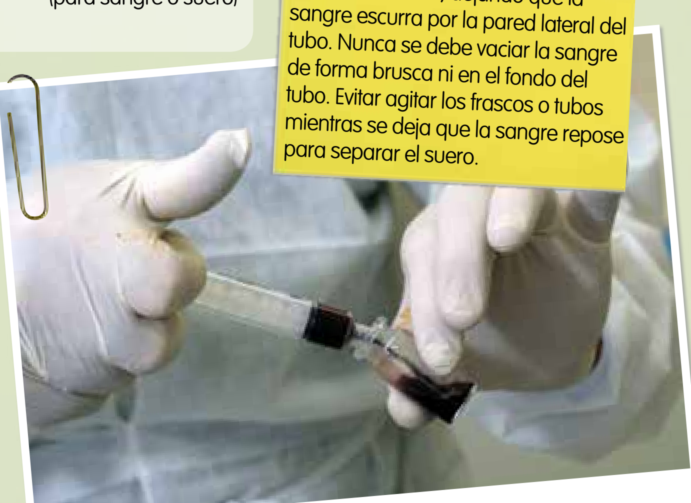
Tubo de ensayo o frasco de vidrio (para sangre); y microtubo tipo "Eppendorf" (para sangre o suero)

NÚMERO DE MUESTRAS

ELISA: promedio 25 sueros/lote
Seroaglutinación Rápida (SAR): 100 sueros/lote para *Mycoplasma synoviae* (MS) y *Salmonella pullorum* (SP) y 150 o 300 sueros/lote para *Mycoplasma gallisepticum* (MG).
Consultar la legislación vigente control oficial

NOTA

Para obtener un suero sin hemólisis, se debe transferir la sangre de la jeringa al tubo cuidadosamente, dejando que la sangre escurra por la pared lateral del tubo. Nunca se debe vaciar la sangre de forma brusca ni en el fondo del tubo. Evitar agitar los frascos o tubos mientras se deja que la sangre repose para separar el suero.





6. Exámenes

Serológico para identificación de anticuerpos

a) Seroaglutinación rápida (SAR)

b) Prueba de inhibición de hemaglutinación (HI), ELISA, Seroneutralización, Seroaglutinación lenta e Inmunodifusión en Gel de Agar

7. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C). **Nunca congelar**

b1) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C); o **b2)** Congelada (- 20°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 24 horas

b1) Hasta 24 horas; o **b2)** Hasta 48 horas

1. Material

Órganos

2. Qué recolectar

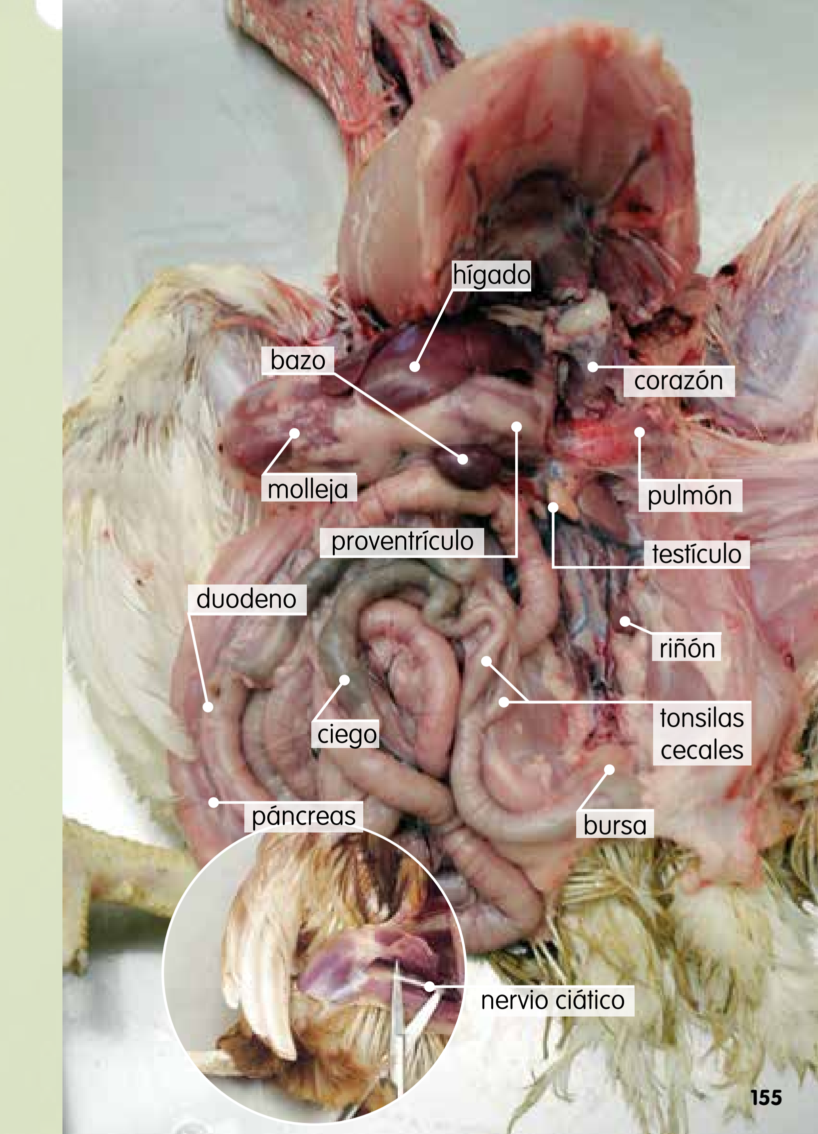
Tráquea, pulmón, orofaringe, corazón, hígado, bazo, riñón, bursa, cerebro, cerebelo, nervio ciático, proventrículo, molleja, páncreas, tonsilas cecales, duodeno y ciego.

3. Cómo recolectar

Utilizar guantes. Con la ayuda de tijera para trinchar aves, abrir la cavidad abdominal y torácica de un ave recién sacrificada. Extraer cuidadosamente los órganos o fragmentos elegidos utilizando tijeras y pinzas esterilizadas;
Cortar fragmentos, de 2,0 cm de espesor como máximo, de los tejidos afectados;
Evitar el contacto de las manos con los órganos, inclusive con guantes, para evitar contaminación.
Agrupar los órganos en 4 grupos y colocarlos en recipientes separados, de la siguiente manera:
1. Tráquea, pulmón y orofaringe;
2. Corazón, hígado, bazo y riñones;
3. Cerebro, cerebelo y nervio ciático; y
4. Proventrículo, molleja, bursa, duodeno, páncreas, tonsilas cecales y ciego.

Para el examen histopatológico, extraer fragmentos de todos los órganos antes descritos en un único frasco con formol al 10%. Incluir el nervio ciático.

NOTA
1. Se debe mantener la tráquea íntegra.
2. En aves adultas (madurez sexual), la bursa sufre una atrofia fisiológica, lo que es más evidente en aves jóvenes.



4. Cantidad

Órganos de por lo menos 5 aves/lote, 3 aves con síntomas y 2 aves aparentemente sanas

5. Exámenes

a) Bacteriológico

b) Aislamiento viral y biología molecular

c) Histopatológico

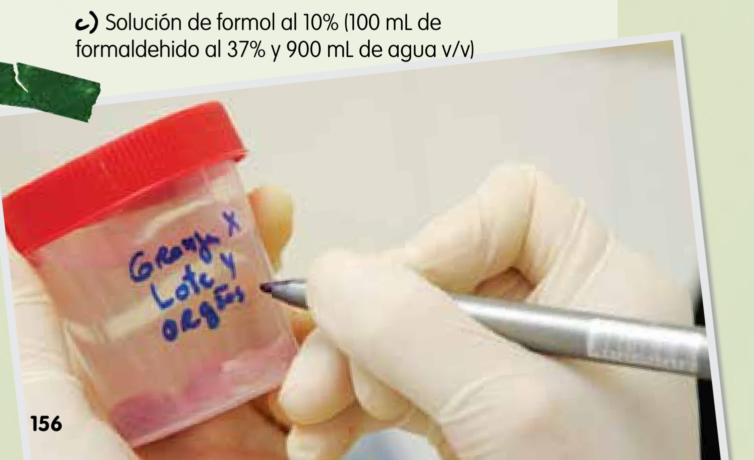
NOTA
El volumen ideal de formol para cada recipiente es alrededor de 10 veces el volumen del material

6. Medio

a) Ninguno

b) MEM (Medio Esencial Mínimo) con 10% de suero bovino (o 10% de suero fetal bovino) con solución de antibióticos (0,5X); BHI con solución de antibióticos (0,5X); Caldo Triptosa Fosfato Tamponado (TPB) con solución de antibióticos (0,5X)

c) Solución de formol al 10% (100 mL de formaldehido al 37% y 900 mL de agua v/v)





Solamente para médicos veterinarios del Servicio Oficial
Para el diagnóstico de la Enfermedad de Newcastle e Influenza Aviar, se deben recolectar los órganos por separado y envasar cada órgano de cada ave en un recipiente único.

7. Recipiente

a y b) Frasco recolector o tubos tipo Falcon, agrupados según se describió en el ítem 3.

8. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C);

c) Ambiente. **Nunca congelar**

9. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 24 horas;

b) hasta 48 horas;

c) Enviar en el mismo tiempo que las otras muestras. **Las muestras en solución de formol al 10%, aunque no estén completamente fijadas, pueden enviarse al laboratorio.**

1. Material

Hisopo traqueal

2. Cómo recolectar

Abrir el pico del ave, bajar la lengua, introducir el hisopo esterilizado en la tráquea y frotar en toda la circunferencia, evitando que el hisopo toque las mucosas de la boca, para prevenir la contaminación;
Pasar un hisopo por ave y luego cortar de inmediato la extremidad del hisopo que estaba en contacto con la mano y sumergir el resto en el frasco que contiene el medio para transporte.
Atención: en el momento de la recolección, usar siempre guantes desechables y abrir el envase de los hisopos por el lado de los cabos, evitando tocar el algodón

NOTA
Al pasar el hisopo por la tráquea, se debe tener cuidado de verificar si se lo está introduciendo en el lugar correcto. Muchas veces se puede confundir la tráquea con el esófago. La tráquea se ubica en la parte VENTRAL. Lo aconsejable es tirar un poco la lengua del ave, de modo que la tráquea se proyecte en dirección a la cavidad bucal, y así se la podrá visualizar.





3. Exámenes

a) Aislamiento viral

b) Aislamiento bacteriológico o técnica de biología molecular para Micoplasma

4. Cantidad

a) Hisopos de 30 aves/lote, agrupando 10 hisopos en cada recipiente

b) Hisopos de 20 aves/lote, agrupados en un recipiente

5. Medio

a) Solución salina adicionada con antimicrobianos específicos

b) Caldo Frey

6. Recipiente

a y b) Bolsa para muestras o frasco con tapa de rosca

7. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C)

b1) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C); **o**

b2) Congelada (- 20°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 24 horas

b1) Hasta 24 horas; **o**

b2) si demora más de 24 horas

1. Material

Hisopo cloacal

2. Cómo recolectar

Recolectar la muestra con hisopo estéril, realizando movimientos circulares en el orificio de la cloaca. Pasar el hisopo por el ave y luego cortar de inmediato el extremo del hisopo que estaba en contacto con la mano y sumergir el resto en el frasco que contiene el medio para transporte.
Atención: en el momento de la recolección, usar siempre guantes desechables y abrir el envase de los hisopos por el lado de los cabos, evitando tocar el algodón



3. Exámenes

a) Bacteriológico para salmonella

b) Aislamiento viral, técnica de biología molecular

4. Cantidad

a) 50 hisopos, un hisopo por cada 2 aves, con un total de 100 aves por grupo. Todos los hisopos agrupados en un mismo recipiente

b) 30 hisopos, un hisopo por ave, con un total de 30 aves por grupo. Agrupar cada 10 hisopos en un mismo recipiente (3 recipientes/grupo)

NOTA
Consultar la legislación vigente en caso de control oficial

5. Medio

a) Agua peptonada tamponada esterilizada

b) Solución salina adicionada con antimicrobianos específicos

6. Recipiente

Bolsa para muestras o frasco esterilizado

7. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C)

b1) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C); **o**

b2) Congelada (- 20°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a) Hasta 24 horas

b1) hasta 24 horas; **o**

b2) si demora más de 24 horas

1. Material

Hisopo de arrastre

a) Gasa o esponja esterilizada

b) Cubre calzado esterilizado

2. Dónde recolectar

Galpón

3. Cómo recolectar

a) Usando guantes desechables, abrir el envase del hisopo de arrastre dentro del galpón donde se hará el muestreo. Sostener el hisopo por el cordón y caminar por el galpón, arrastrándolo sobre la cama, principalmente entre los comederos y bebederos. Colocar el hisopo dentro del recipiente con el medio para transporte, cortando el cordón.

b) Colocarse el cubre calzado sobre la bota y caminar por el galpón, principalmente entre los comederos y bebederos. Retirar el cubre calzado utilizando guantes desechables y colocarlo dentro del recipiente con el medio para conservación.



4. Cantidad

2 hisopos por galpón del grupo

NOTA
Si el laboratorio provee un palillo estéril, utilizarlo para colocar los hisopos dentro del recipiente.

5. Medio

Agua peptonada tamponada esterilizada

6. Recipiente

Bolsa para muestras o frasco esterilizado

7. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 24 horas

9. Examen

Bacteriológico para Salmonella

1. Material

Fondo de caja

2. Dónde recolectar

Caja de transporte de aves de 1 día

3. Cómo recolectar

a) Hisopos: usando guantes desechables, frotar una gasa esterilizada por toda la superficie interna de la caja, preferentemente sobre las heces, y luego colocarla en un recipiente adecuado.

b) Fondo de la caja: Usando guantes desechables, doblar el fondo de las cajas de modo que el lado manchado con heces quede hacia adentro y luego colocarlo en un recipiente adecuado.



4. Cantidad

a) 1 hisopo/2 cajas. Mínimo de 4 cajas analizadas/ lote, agrupando todos los hisopos del lote en un mismo recipiente

b) Fondos de por lo menos 4 cajas, agrupados por lote en un mismo recipiente

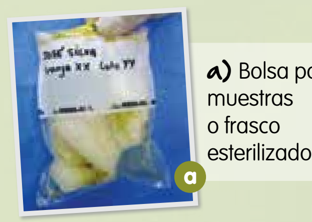
NOTA
Consultar la legislación vigente en caso de control oficial

5. Medio

a) Agua peptonada tamponada esterilizada

b) Ninguno

6. Recipiente



a) Bolsa para muestras o frasco esterilizado

b) Bolsas plásticas resistentes



7. Temperatura de la muestra para transporte

a) Refrigerada (+ 2°C a + 8°C)

b) Ambiente

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a y b) Hasta 24 horas

9. Exámenes

Bacteriológico y Micológico

1. Material

Papel o viruta –
que reviste la caja de transporte de aves de 1 día

2. Dónde recolectar

Caja de transporte de aves de 1 día

3. Cómo recolectar

Usando guantes desechables, transferir el material que reviste la caja a bolsas plásticas resistentes

4. Cantidad

Revestimiento de la caja de transporte de por lo menos 4 cajas, agrupados por lote en un mismo recipiente

NOTA
Consultar la legislación vigente en caso de control oficial

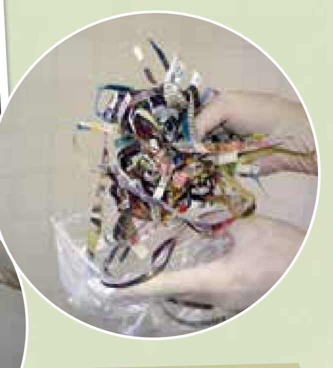


5. Medio

Ninguno

6. Recipiente

Bolsas plásticas resistentes



7. Temperatura de la muestra para transporte

Ambiente

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 24 horas

9. Exámenes

Bacteriológico y Micológico

1. Material

Heces frescas

2. Dónde recolectar

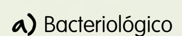
En el galpón

3. Cómo recolectar

Usando guantes desechables y con la ayuda de una espátula esterilizada, recolectar las muestras de heces frescas de diversos puntos del galpón, colocarlas en un mismo envase por lote

4. Exámenes

a) Bacteriológico



b) Aislamiento viral, técnica de biología molecular

5. Cantidad

a) 1 "pool" de 100 muestras/grupo, colocadas en un mismo recipiente

b) 50 a 100g/lote

NOTA
Consultar la legislación vigente en caso de control oficial

6. Medio

a) Ninguno

b) Solución salina adicionada con antimicrobianos específicos

7. Recipiente

a) Bolsas plásticas resistentes

b) Bolsa para muestras o frasco esterilizado

8. Temperatura de la muestra para transporte

a y b) Refrigerada (+2°C a +8°C)

9. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a y b) Hasta 24 horas

1. Material

Meconio

2. Dónde recolectar

En la sala de incubación

3. Cómo recolectar

Usando guantes desechables, recoger el meconio directamente en un recipiente apropiado después de que el ave lo excrete ejerciendo una leve presión





4. Cantidad

50 mL/grupo de reproductoras no vacunadas contra *Salmonella enteritidis*

Meconio de 200 pollitos/ grupo de reproductoras vacunadas contra *Salmonella enteritidis*, solo en el primer nacimiento

NOTA
Consultar la legislación vigente en caso de control oficial

5. Medio

Ninguno

6. Recipiente

Bolsa para muestras o frasco esterilizado

7. Temperatura de la muestra para transporte

Refrigerada (+2°C a +8°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 24 horas

9. Examen

Bacteriológico para Salmonella

1. Material

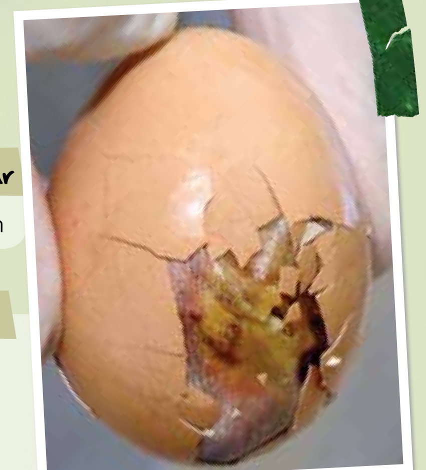
Huevos picados

2. Dónde recolectar

En la sala de incubación

3. Cómo recolectar

Usando guantes desechables, retirar de la nacedora los huevos picados no nacidos





4. Cantidad

20 huevos/grupo de reproductoras no vacunadas contra *Salmonella enteritidis*

150 huevos del primer nacimiento/grupo de reproductoras vacunadas contra *Salmonella enteritidis*



5. Medio

Ninguno

6. Recipiente

Envases plásticos resistentes

7. Temperatura de la muestra para transporte

a1) Refrigerada (+2°C a +8°C); **o** **a2)** Congelada (-20°C)

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

a1) Hasta 24 horas; **o** **a2)** Más de 24 horas, hasta la entrega en el laboratorio

9. Exámenes

Bacteriológico



ABEJAS

Apis mellifera

Autores
Érica Weinstein Teixeira
Agencia Paulista de Tecnología del Agronegocio
(APTA, SAA-SP)

Dejair Message
Universidad Federal de Viçosa (UFV)

Material para la toma de muestras para el diagnóstico de enfermedades que afectan a las Abejas *Apis mellifera*

IMPORTANTE

"Siempre utilizar espátula para apicultor, cuchillos y pinzas debidamente desinfectados entre colmenas y colmenares" (lavar con agua y jabón, realizar fregado mecánico y después sumergir en alcohol al 70%)

Kit EPP – Equipo de protección personal



Ahumador

Espátula para Apicultor

Cuchillo

Bolígrafo marcador indeleble

Bolsa de plástico

Caja isotérmica con hielo reciclable

Lápiz y bolígrafo

Pinza

Guantes de látex

Papel de diario

Pincel/brocha

Micro tubos tipo "Eppendorf"

Etiquetas

Sobre de papel

Espuma de colchón

Papel

Recipiente de plástico universal

Recipiente de plástico universal perforado

Recipiente de plástico de 500 mL

Garantizar la seguridad

Antes de dirigirse al colmenar, el profesional deberá vestirse adecuadamente con el equipo de protección personal (EPP), encender el ahumador y tomar la espátula de apicultor.

TRABAJAR EN PAREJAS

El trabajo de recolección siempre deberá realizarse en parejas: una persona controlará las abejas con el fumigador y la otra persona recogerá las muestras



Es imprescindible usar el ahumador ya que el humo, en la cantidad adecuada, permite controlar la defensa de las abejas.

Reconocimiento de las partes de una colmena

Tapa o techo

Alza de miel o melaria

Rejilla excluidora de reinas

Alimentador

Cámara de cría o nido

Base (fondo)

Protector contra hormigas

Caballete o soporte

Piquera (entrada de la colmena)

Colmena Langstroth o padrón, despoblada, sobre un caballete de madera

Identificación de los individuos de la colonia, celdas de obreras, celdas de zánganos y celda de reina



Celda de zángano desoperculada

Celda de zángano operculada

Celda de reina abierta

Celda de reina cerrada

Apertura e inspección de una colmena

1° Paso

Apertura de la colmena y control del comportamiento defensivo de las abejas

- Echar humo en la piquera;
- Levantar la tapa;
- Echar humo en forma paralela a la superficie de los cuadros;
- Cerrar la colmena por 1 minuto;

Mantener el ahumador cerca de 15 cm de la colmena

- Abrir la tapa nuevamente y echar humo en forma paralela a la superficie de los panales.



Certificar que la reina no está en la tapa

- Apoyar la tapa en el piso con la parte interna hacia arriba, colocando sobre ella la(s) alza(s) de miel o cualquier otro elemento utilizado por el apicultor (Ej.: Alimentador superior, recolector de polen, recolector de propóleos, rejilla excluidora, etc.).



2° Paso - Inspeccionando el área de cría;





- Con la ayuda de la espátula para apicultor, despegar los panales del nido (debido a la propolización);
- retirar un panal del área de cría.



- Realizar la inspección de los panales del área de cría. Certificar que la reina no se encuentre en ese panal y, si estuviera allí, transferirla cuidadosamente hacia otro panal o permitir que lo haga espontáneamente.



Para facilitar la visualización de las crías, si es necesario, sacudir suavemente el panal dentro de la colmena o utilizar una rama pequeña de una planta para alejar a las abejas adultas que cubren el área de cría.

Fases de desarrollo de las abejas

Durante su ciclo de vida, las abejas pasan por cuatro fases diferentes: huevo, larva, pupa e insecto adulto

DIFERENTES FASES DEL DESARROLLO DE LAS ABEJAS – CRÍAS NORMALES

Huevo

El primer día se encuentra en posición vertical; el segundo día inclinado, y el tercer día se coloca en posición horizontal



H.M.Takada, PRDTA-VP/APTA, SAA, SP

Larva

Fase larvaria **Prepupa**



M. Elias-Neto, FFCLRP/ USP

Diferentes subestadios del desarrollo larvario, incluyendo prepupa



Diferentes estadios de la fase larvaria. Crías desoperculadas y operculadas

Pupa

Fase de pupa



M. Elias-Neto, FFCLRP/ USP

Diferentes estadios de la fase de pupa (pupa de ojos blancos, pupa de ojos rosados, pupa de ojos rosado oscuro y pupa de ojos marrones con pigmentación leve a fuerte).





Prepupa y pupa en diferentes estadios, desoperculadas, para permitir la visualización.

Las crías sanas por lo general son vigorosas en la fase larvaria se encuentran en el fondo de las celdas, en forma de "C" (desoperculadas). Después de 5 a 6 días, esas larvas son operculadas con cera, y cambian constantemente de posición hasta quedar rectas en las celdas, con la parte posterior del cuerpo en la pared lateral de las celdas (prepupa).
En esa fase, la larva deja de moverse y sufre modificaciones, transformándose en pupa. Desde el huevo, pasando por todos los estadios de larva, hasta el estadio inicial de pupa, la cría presenta una coloración blanco-perla en todo el cuerpo. Durante la fase pupal ocurren cambios graduales en la pigmentación de los ojos y de los segmentos del cuerpo.

Diferentes anomalías en la fase de cría

Para reconocer los síntomas de las enfermedades es importante estar familiarizado con las características de las diferentes fases de desarrollo de las crías y con el aspecto de un panal con crías saludables.



Cuadro con área de cría normal



Cuadro con área de cría salteada



Ejemplos de posibles alteraciones en el aspecto de las crías



Bart Smith, BRL/ARS/USDA

Cría momificada

Cría con alteraciones del color y/o yesificada

Cría torcida contra la pared de la celda con alteración del color y reseca

Cría en el fondo de la celda con alteración del color y reseca

Cría con alteración de la consistencia (acuosa)

Principales enfermedades, intoxicaciones y parasitosis que afectan **CRÍAS DE ABEJAS - *Apis mellifera***

Loque americana

Agente causante
Bacteria *Paenibacillus larvae*

Fase de desarrollo de la cría afectada
Prepupa y pupa

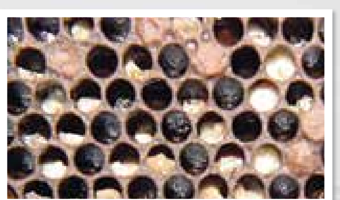

BART SMITH, BRL/ARS/USDA


VIRGINIA WILLIAMS, BRL/ARS/USDA

Loque europea

Agente causante
Bacteria *Melissococcus plutonius*

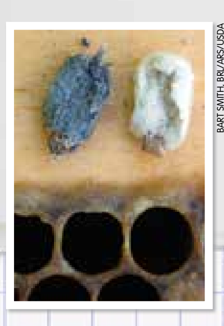
Fase de desarrollo de la cría afectada
Generalmente larva desoperculada en fase de alimentación; en ocasiones cría operculada



Cría encalada o cría yesificada

Agente causante
Hongo *Ascosphaera apis*

Fase de desarrollo de la cría afectada
Crías ya operculadas, prepupa y pupa (quedan momificadas)

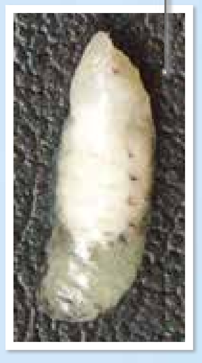

BART SMITH, BRL/ARS/USDA


BART SMITH, BRL/ARS/USDA

Cría Ensacada

Agente causante
Virus SBV (Sac *Brood Virus*)

Fase de desarrollo de la cría afectada
Prepupa (no logra llegar a estadio de pupa)



Cría Ensacada Brasilera

Agente causante

Polen de la planta barba timón (*Stryphnodendron spp*)

Fase de desarrollo de la cría afectada

Prepupa (no logra llegar a estadio de pupa



Cría con alas deformadas

Agente causante

Virus DWV (*Deformed Wing Virus*), o, eventualmente, Varroa (por acción física)

Fase de desarrollo de la cría afectada

Pupa, cerca de la aparición o nacimiento (cuando el síntoma es evidente)



Crías Anómalas

Agente causante

Causa indeterminada

Fase de desarrollo de la cría afectada

Pupa



Varroasis

Agente causante

Ácaro ectoparásito *Varroa destructor* (en la fase de reproducción)

Fase de desarrollo de la cría afectada

Cría ya operculada





Muestras para el diagnóstico de las principales enfermedades que afectan
CRÍAS DE ABEJAS - *Apis mellifera*

Antes de iniciar la recolección de la muestra, observe minuciosamente los panales del área de cría.
En los cuadros que presenten defectos (de acuerdo con lo expuesto en la página 188), intente detectar la presencia de crías con alteración del color (cambio de blanco-perla a marrón claro a oscuro); mustia, retorcida en las paredes de las celdas o momificadas.

Recolección de crías para análisis

Para diagnosticar la enfermedad, recolectar
4 muestras diferentes

Muestra 1

NOTA
Realizar las recolecciones de las muestras utilizando guantes desechables de látex sobre los guantes de goma y descartarlos, entre una colmena y otra, en bolsa para residuos, y cerrarla inmediatamente.

1. Dónde recolectar

En el nido

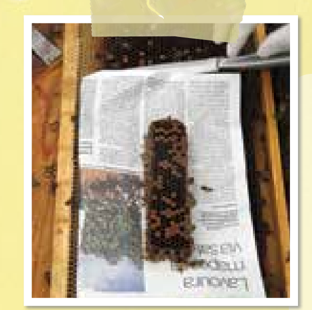
2. Qué recolectar

Panales incompletos y con crías anormales, sin miel

3. Cómo recolectar

Con el cuchillo, entre los alambres del cuadro, cortar fragmentos de panal en una zona que contenga crías sospechosas





4. Cantidad

Fragmentos de panal con **el máximo posible de crías anormales** – 3 a 5 fragmentos de panal de aproximadamente 3x3 cm a 3x10 cm, preferentemente entre los alambres del cuadro. También puede ser el panal completo



5. Recipiente

Envolver las muestras de panal en papel de diario u otro tipo de papel no encerado.
Atención: Nunca envolver en plástico o papel aluminio, ni colocar en frasco cerrado

6. Temperatura de la muestra para transporte

Ambiente

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Aislamiento/identificación

Análisis microscópico y/o molecular, si el material está bien conservado

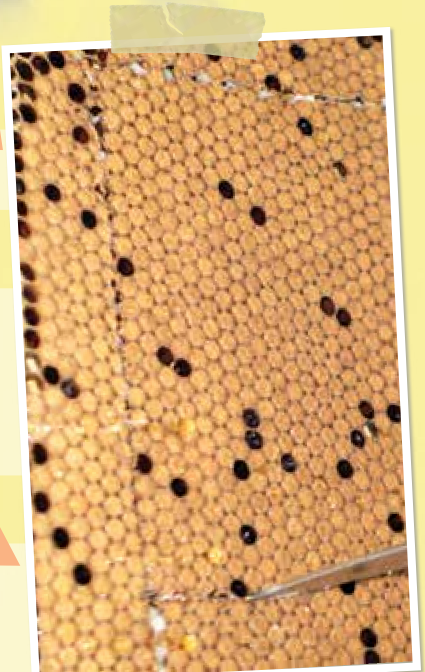
Muestra 2

1. Dónde recolectar

En el nido

2. Qué recolectar

Panales con crías operculadas (preferentemente sin miel y con pupas más viejas, de ojos oscuros)



3. Cómo recolectar

Con un cuchillo, cortar un fragmento de panal con crías

4. Cantidad

Fragmento de panal de aproximadamente 3x10 cm (con 100 crías operculadas como mínimo)



5. Recipiente

Envolver los fragmentos de panal en papel de diario u otro tipo de papel no encerado.
Atención: nunca envolver en plástico o papel de aluminio o frasco cerrado

6. Temperatura de la muestra para transporte

Ambiente

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Evaluación de la tasa de infestación de las crías por *Varroa destructor* (varroasis)



Muestra 3

1. Dónde recolectar

En el nido



2. Qué recolectar

Crías anormales

3. Cómo recolectar

Recolectar crías anormales con una pinza, individualmente.

4. Cantidad

Efectuar la recolección individual de aproximadamente 20 crías o todas, si fueran menos de 20

5. Recipiente

Dividir las muestras en 2 partes iguales y colocar en:

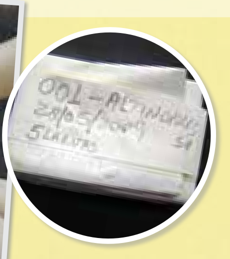
a) Tubos tipo "Eppendorf" de 1,5 o 2,0 mL - colocar una cría sospechosa por tubo





b) Papel oficio común - aplastar la muestra al doblar el papel (colocar el papel dentro de un sobre)





6. Temperatura de la muestra para transporte

a) Congelada (-20°C). Congelar inmediatamente las muestras y mantener el material en freezer hasta el envío al laboratorio

b) Ambiente

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Análisis microscópico, microbiológico y/o molecular

Muestra 4

1. Dónde recolectar

En el nido



2. Qué recolectar

Fragmento de panal con miel operculada (en la parte superior de los panales de cría – si no se encuentra, recolectar miel desoperculada)

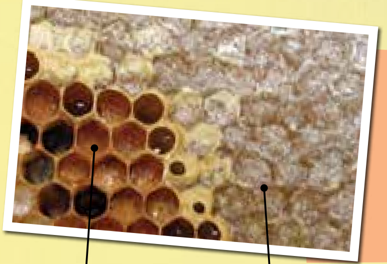
3. Cómo recolectar

Con un cuchillo, cortar la parte superior del panal con miel (entre el alambre y la madera del cuadro)



4. Cantidad

Cuatro fragmentos de aproximadamente 3X7 cm (la muestra puede contener polen)



Detalle del panal con miel operculada y polen almacenado en la celda (también llamado "pan de abejas")

5. Recipiente

Colocar las muestras en frascos de plástico de 500 g a 1 kg. Cerrar bien, colocando inmediatamente cada frasco en una bolsa de plástico

6. Temperatura de la muestra para transporte

Ambiente

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Análisis para esporas de *P. larvae* y presencia de polen de barba timón

Principales enfermedades, intoxicaciones y parasitosis que afectan **ABEJAS ADULTAS - *Apis mellifera***

Nosemosis

Agente causante
Microsporidios, *Nosema apis* y/o *Nosema ceranae*

Síntomas clínicos
Diarrea, cuando la causa es el *N. apis;* Síntoma inespecífico, cuando la causa es el *N. ceranae*

Acariosis

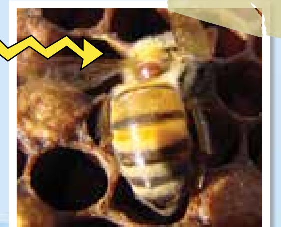
Agente causante
Ácaros endoparásitos, *Acarapis woodi,* entre otras especies

Síntomas clínicos
Inespecíficos

Varroasis

Agente causante
Ácaro endoparásito, *Varroa destructor*

Constatación visual de la presencia del ácaro sobre las abejas



Virosis

Agente causante
Alrededor de 18 virus diferentes pueden infectar a las abejas, entre los cuales se pueden citar los siguientes: *Black Queen Cell Virus* (BQCV) - *Filamentous Virus* (FV) - *Deformed Wing Virus* (DWV) - *Chronic Bee Paralysis Virus* (CBPV) - Acute Bee Paralysis Virus (ABPV) - *Israeli Acute Paralysis Virus* (IAPV) y *Cloud Wing Virus* (CWV)

Síntomas clínicos
Inespecíficos, aunque algunos síntomas se han asociado a virosis, tales como: abejas con alas deformadas dentro y en el frente de la colmena, abejas sin pelos y con aspecto brilloso, abejas con alas opacas y abejas con temblores


Yanping Chen, BRL/ARS/USDA

Intoxicaciones por agrotóxicos

Agente causante
Componentes químicos de insecticidas y otros agroquímicos

Síntomas clínicos
Gran cantidad de abejas muertas fuera y/o dentro de la colmena


Osmar Malaspina, CEIS/UNESP

Muestras para el diagnóstico de las principales enfermedades que afectan **ABEJAS ADULTAS - *Apis mellifera***

En general, las abejas adultas no presentan síntomas característicos de cada enfermedad. Lo que se observa comúnmente es la presencia de algunas abejas adultas moribundas en la entrada de la colmena (piquera) o en el suelo, arrastrándose hasta morir.
Cuando la mortalidad se produce por algún tipo de insecticida, se observa una mayor cantidad de abejas muertas en el piso frente a la colmena y, en ocasiones, en el fondo de la colmena.
Eventualmente, algunas virosis y ciertos parásitos pueden producir síntomas específicos (alas deformadas, ausencia de pelos, entre otros)

Recolección de abejas adultas para el análisis

Para diagnosticar enfermedades e intoxicaciones de las abejas adultas, recolectar **5 muestras diferentes**

Muestra 1

1. Dónde recolectar

Frente a la colmena (en el suelo) y en la entrada de la colmena (piquera)



NOTA
Si posible, un día antes de la cosecha, desbrozar/limpiar de 2 a 3 metros en frente a cada colmena, para facilitar la visualización de las abejas que están muriendo

2. Qué recolectar

Abejas adultas aún vivas y moribundas (arrastrándose y que no pueden volar)

3. Cómo recolectar

Con la ayuda de una pinza, recolectar las abejas moribundas

4. Cantidad

Aproximadamente 30 abejas o más por colmena

5. Recipiente

Frascos de plástico tipo universal perforados en la tapa y en los laterales

6. Temperatura de la muestra para transporte

Ambiente

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 48 horas

8. Exámenes

Detección de esporas de *Nosema spp.*, ácaros endoparásitos y protozoarios

Muestra 2

1. Dónde recolectar

En la entrada de la colmena (piquera)

2. Qué recolectar

Abejas adultas de campo que están llegando

3. Cómo recolectar

Cerrar la entrada de la colmena (piquera) con una tira de espuma común y recolectar las abejas que están llegando dentro de un frasco de plástico tipo universal que contenga alcohol al 70%

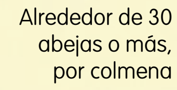


NOTA

Para la recolección de abejas en la piquera, se las puede aspirar, utilizando un aspirador de enjambres de abejas o, alternativamente, barrerlas con un pincel/brocha común (de pintura) de 4 a 5 cm de ancho



4. Cantidad



Alrededor de 30 abejas o más, por colmena

5. Medio

Alcohol al 70%. En el frasco, dejar 5mm de alcohol sobre las muestras de abejas

6. Recipiente

Frasco de plástico tipo universal (con alcohol al 70%) **Atención:** cerrar bien el frasco, colocando cada frasco en una bolsa de plástico. Inmediatamente, colocar en una caja de cartón con divisiones entre los frascos

7. Temperatura de la muestra para transporte

Ambiente

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 72 horas

9. Exámenes

Detección de esporas de *Nosema spp.*, ácaros endoparásitos y protozoarios

Muestra 3

1. Dónde recolectar

Dentro de la colmena

2. Qué recolectar

Abejas adultas que cubren el área de cría

3. Cómo recolectar

Sostener un panal de cría. Con la ayuda de un frasco de plástico tipo universal, colocado en posición oblicua, arrastrarlo de abajo hacia arriba y recolectar las abejas en el frasco





4. Cantidad

Aproximadamente 10 abejas por colmena

5. Recipiente

Frasco de plástico tipo universal

6. Temperatura de la muestra para transporte

Congelada (-20°C). Congelar inmediatamente las muestras, manteniendo el material en el freezer hasta el envío al laboratorio

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 24 horas

8. Exámenes

Análisis molecular

Muestra 4

1. Dónde recolectar

Dentro de la colmena



2. Qué recolectar

Abejas adultas que están cubriendo el área de cría

3. Cómo recolectar

Sostener un panal de cría. Con la ayuda de un frasco de plástico de 500 mL con 250 mL de alcohol al 70%, en posición oblicua, arrastrarlo de abajo hacia arriba y recolectar las abejas en el frasco



4. Cantidad

Alrededor de 200 a 300 abejas por colmena

5. Medio

Alcohol al 70%. En el frasco, dejar 5mm de alcohol sobre las muestras de abejas.



6. Recipiente

Frasco de plástico de 500 mL (con alcohol al 70%) **Atención:** cerrar bien el frasco, colocando cada frasco en una bolsa de plástico. Inmediatamente, colocar en caja de cartón con divisiones entre los frascos

7. Temperatura de la muestra para transporte

Ambiente

8. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

hasta 72 horas

9. Exámenes

Determinación de la tasa de infestación de ácaros ectoparásitos

Muestra 5

1. Dónde recolectar

En el frente y/o en el fondo de cada colmena



2. Qué recolectar

Abejas adultas moribundas y/o muertas

Importante: Recolectar abejas muertas solo si la muerte ocurrió un día antes de la recolección



OSMAR MALASPINA, CEIS/UNESP.

3. Cómo recolectar

Con la ayuda de una pinza o con la propia mano utilizando guantes desechables, recolectar las abejas moribundas y/o recientemente muertas



OSMAR MALASPINA, CEIS/UNESP.

4. Cantidad

Alrededor de 300 a 500 abejas en las proximidades de cada colmena

5. Recipiente

Frasco de plástico con capacidad de 1 kg

6. Temperatura de la muestra para transporte

Congelada (-20°C). Congelar inmediatamente las muestras, y mantener el material en el freezer hasta el envío al laboratorio

7. Tiempo crítico para llegar al laboratorio

Hasta 24 horas

8. Exámenes

Detección de insecticida y otros agroquímicos

Bibliografia

ANTÓN, J. J. R.; MAYAYO, L. M. F. **La exploración clínica del ganado ovino y su entorno**. Zaragoza: Servet, 2007. 422 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 7.500**: símbolos de risco e manuseio para o transporte e armazenamento de material. Rio de Janeiro, março de 2000.

BERCHIERI JÚNIOR, A.; MACARI, M. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. 800 p.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 6, de 19 de setembro de 1991. Dispõe sobre a incineração de resíduos sólidos provenientes de estabelecimentos de saúde, portos e aeroportos. **Diário Oficial União,** Brasília, DF, 30 out. 1991. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1156> Acesso em: 14 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Controle da raiva dos herbívoros**: manual técnico. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2005. 104 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 17 de 07 de abril de 2006. Aprovar, no âmbito do Programa Nacional de Sanidade Avícola, o Plano Nacional de Prevenção da Influenza Aviária e de Controle e Prevenção da Doença de Newcastle. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 abril 2006, Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 32, de 14 de maio de 2002. Aprova as normas técnicas de vigilância para doença de Newcastle e Influenza Aviária, e de controle e erradicação para a doença de Newcastle. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 maio 2002. Seção 1, p. 28.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 44 de 23 de agosto de 2001. Aprova as normas técnicas para o controle e a certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas para a Micoplasmose Aviária *(Mycoplasma gallisepticum, synoviae* e *melleagridis).* **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 ago. 2001, Seção 1, p. 68.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 78, de 03 de novembro de 2003. Aprova as normas técnicas para controle e certificação de núcleos e estabelecimentos avícolas como livres de *Salmonella gallinarum* e de *Salmonella pullorum* e livres ou controlados para *Salmonella enteritidis* e para *Salmonella typhimurium*. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 nov. 2003, Seção 1, p. 3. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=11080>. Acesso em: 14 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plano de ação para febre aftosa**: volume I – atendimento à notificação de suspeita de doença vesicular. Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2009. 96 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 48, de 17 de fevereiro de 2006. Submete à consulta pública, por um prazo de 30 (trinta) dias, a partir da data de publicação desta Portaria, o Projeto de Instrução Normativa, que aprova o Plano Nacional de Controle e Prevenção da Doença de Newcastle e de Prevenção da Influenza Aviária. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 21 fev. 2006, Seção 1, p. 6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 108 de 04 de setembro de 1991. Aprova os métodos analíticos para controle de alimentos para uso animal. **Diário Oficial União,** Brasília, DF, 17 set. 1991. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=12750>. Acesso em: 16 out. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 126, de 03 de novembro de 1995. Normas de credenciamento e monitoramento de laboratórios de diagnóstico das salmoneloses aviárias *(S. enteritidis, S. gallinarum, S. pullorum* e *S. typhimurium).* **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 nov. 1995, Seção 1, p. 17694. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=12698 >. Acesso em: 14 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria N° 182 de 08 de novembro de 1994. Aprova as Normas de Credenciamento e Monitoramento de Laboratórios de Diagnóstico da Doença de Newcastle. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 nov. 1994, Seção 1, p. 17003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Procedimentos para colheita, transporte, recepção e conservação de amostras de soros para diagnóstico sorológico de febre aftosa**. Brasília: MAPA/DSA/DDA, 2004.13 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Procedimentos para o diagnóstico das doenças do sistema nervoso central de bovinos**. Brasília: MAPA/DSA/DDA, 2003. 50 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Programa Nacional de Sanidade Avícola. **Procedimentos operacionais de atividades de campo**: manual técnico. Brasília, DF: MAPA, 2002. 85 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Diretrizes gerais para o trabalho em contenção com material biológico**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2004. 60 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério dos Transportes. Portaria n° 204, de 20 de maio de 1997. Aprova as instruções complementares aos regulamentos dos transportes rodoviários e ferroviários de produtos perigosos. **Diário Oficial União,** Brasília, DF, 26 maio 1997. Suplemento nº 98.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Control of preanalytical variation in trace element determinations; approved guideline**. Pennsylvania: NCCLS, 1997. (NCCLS document C38-A).

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Tubes and additives for venous blood specimen collection; approved standard**. 5th ed. Pennsylvania: NCCLS, 2003. (NCCLS document H01-A5).

KOERICH, P. K. V.; ZUFFO, J. P.; BACK, A.; PEREIRA, R. A. **Guia de coleta e envio de materiais para diagnóstico laboratorial.** 2. ed. Xanxerê, SC: News Print Gráfica e Editora Ltda, 2007. 165p.

MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Pathologic basis of veterinary disease.** 4th ed. Maryland: Elsevier, 2007. 1488 p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/ MEDICINA LEGAL; BD DIAGNOSTICS PREANALYTICAL SYSTEMS. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica / ML para coleta de sangue venoso**. São Paulo: SBPC/ML, 2005. 76 p.

UNITED NATIONS. **UN recommendations on the transport of dangerous goods - model regulations.** 13th ed. rev. Disponível em: <http://www.unece.org/trans/danger/publi/unrec/rev13/13files_e.html>. Acesso em: 30 out. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the safe transport of infectious substances and diagnostic specimens**. Genebra: WHO, 1997. (WHO/EMC/97.3). Disponível em: <http://www.who.int/csr/emc97_3.pdf> Acesso em: 29 maio 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory biosafety manual**. 2nd rev. Geneva: WHO, 2003. Disponível em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Labbiosafety.pdf>. Acesso em: 29 maio 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory biosafety manual**. 3nd ed. Geneva: WHO, 2004. Disponível em: <www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>. Acesso em: 29 maio 2009.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. 5th ed. Paris: OIE, 2004. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00055.htm> Acesso em: 30 out. 2009.

Producción



www.edhorizonte.com.br

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento - MAPA
Departamento de Salud Animal
Esplanada dos Ministérios, Bloco D, Anexo - A, Sala 301
70043-900 - Brasília/DF – Brasil
Tel.: 00 55 61 3218-270 Fax: 00 55 61 3226-3446
http://www.agricultura.gov.br/
0800- 7041995

Organización Panamericana de la Salud - OPS/OMS
Salud Pública Veterinaria
Centro Panamericano de Fiebre Aftosa - PANAFTOSA
Av. Governador Leonel de Moura Brizola, 7778 – CEP: 25045-002
Duque de Caxias, Rio de Janeiro – Brasil
Tel.: 00 55 3661-9003   Fax: 55 21 3661-9001
http://www.paho.org/panaftosa





